

58

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-204077

(P2000-204077A)

(43) 公開日 平成12年7月25日 (2000.7.25)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマト* (参考)
C 0 7 D 233/20		C 0 7 D 233/20	4 C 0 3 6
A 6 1 P 9/10		A 6 1 K 31/00	6 0 9 F 4 C 0 5 6
17/06			6 1 7 E 4 C 0 8 6
35/00			6 3 5
37/06			6 3 7 D

審査請求 未請求 請求項の数44 O L 外国語出願 (全 76 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平11-53564	(71) 出願人	391011308 ワーナー・ランバート・カンパニー WARNER LAMBERT COMP ANY アメリカ合衆国ニュージャージー州 07950, モーリス・ブレインズ, テーバ ー・ロード 201
(22) 出願日	平成11年3月2日 (1999.3.2)	(72) 発明者	スティーブン・ダグラス・バレット アメリカ合衆国ミシガン州48154, リヴォ ニア, サンベリ14220
(31) 優先権主張番号	1 1 5 8 7 5	(74) 代理人	100091731 弁理士 高木 千嘉 (外1名)
(32) 優先日	平成11年1月13日 (1999.1.13)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

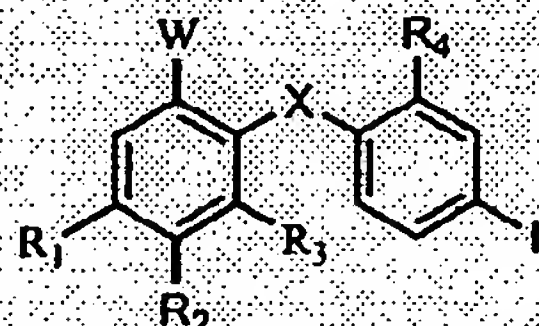
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ジアリアルアミン

(57) 【要約】

【課題】 新規ベンゾヘテロアリアル化合物、これらの化合物を製造および使用する方法、ならびにこれらの化合物を含有する組成物の提供。

* 【解決手段】 このベンゾヘテロアリアル化合物は、次の式 (I) 【化1】



(I)

(式中、W、X、R₁、R₂、R₃、R₄は特許請求の範囲請求項1に記載の意味を有する) で表わされ、増殖性疾患治療剤と

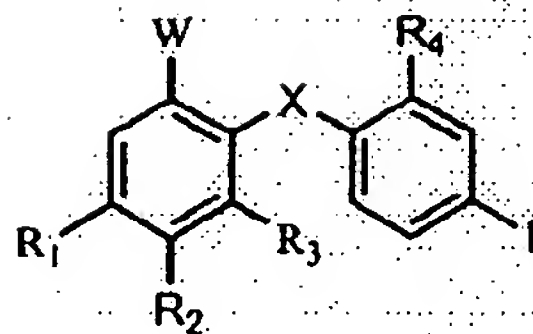
して有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 式(1)

*【化1】

*

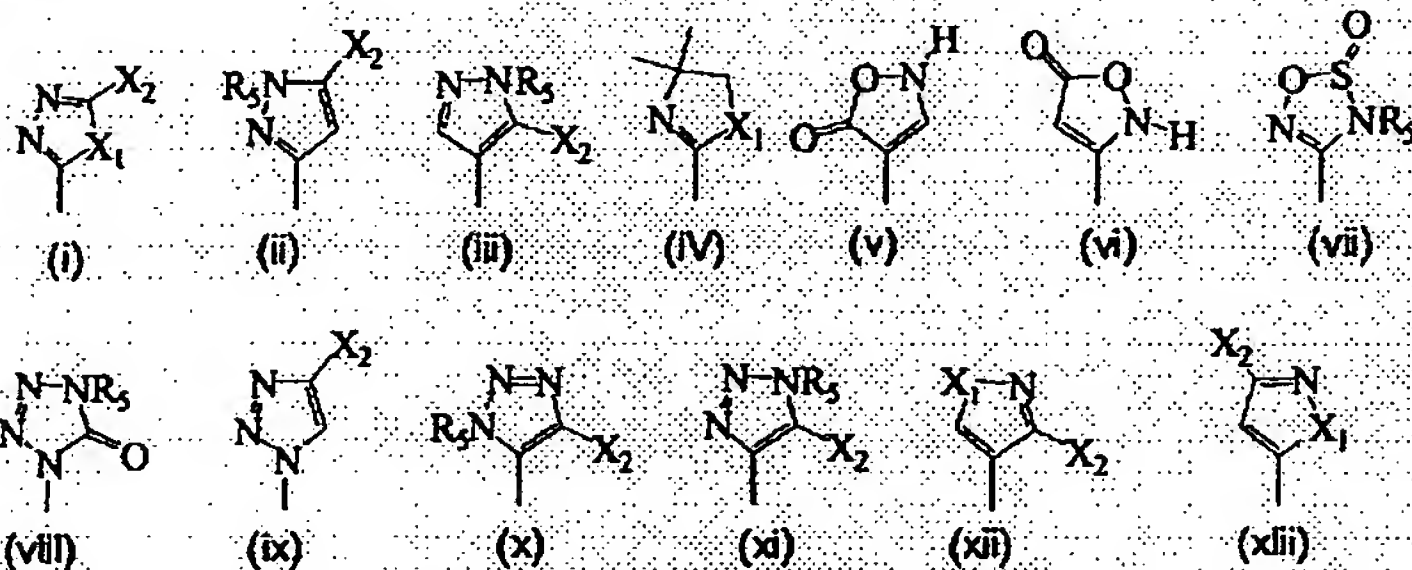


(I)

の化合物またはその医薬的に許容し得る塩またはC₁-
エステル。上記式において、

* Wは、式(1)~(xiii)

*10 【化2】



の1種であり；X₁はO、SまたはNR₅であり；X₂
は、OH、SHまたはNHR₆であり；R₁およびR₂の
それぞれは、HまたはC₁-アルキルであり；R₃および
R₄のそれぞれは、独立して、H、F、NO₂、Brおよ
びClから選択されたものであり；R₅は、HまたはF
であり；R₆は、H、C₁またはCH₃であり；R₇は、H
またはC₁-アルキルであり；そして上述したそれそれ
の炭化水素基は、場合によっては、独立してハロゲン、
ヒドロキシル、アミノ、(アミノ)スルホニルおよびNO₂
から選択された1~3個の置換分によって置換され
ていてもよく；そして上述したそれぞれの複素環式基
は、場合によっては、独立してハロゲン、C₁-アルキ
ル、C₂-シクロアルキル、C₃-アルケニル、C₄-アル
キニル、フェニル、ヒドロキシル、アミノ、(アミ
ノ)スルホニルおよびNO₂から選択された1~3個の
置換分によって置換されていてもよく、そしてそれそれ
の置換分アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アル
キニルまたはフェニルは、場合によっては、独立してハ
ロゲン、C₁-アルキル、ヒドロキシル、アミノおよび
NO₂から選択された1~2個の置換分によって置換さ
れていてもよい。

【請求項2】 R₁が臭素または塩素である請求項1記
載の化合物。

【請求項3】 R₁が弗素である請求項1記載の化合
物。

【請求項4】 R₁がHである請求項1記載の化合物。

【請求項5】 R₁およびR₂のそれぞれがHである請求
項4の化合物。

【請求項6】 R₁およびR₂のそれぞれが弗素である請
求項1記載の化合物。

【請求項7】 R₁が臭素である請求項6記載の化合

20 物。

【請求項8】 R₁が弗素である請求項6記載の化合
物。

【請求項9】 R₁がニトロである請求項1の化合物。

【請求項10】 R₁がHである請求項8記載の化合
物。

【請求項11】 R₁が塩素である請求項1記載の化合
物。

【請求項12】 R₁がメチルである請求項1記載の化
合物。

30 【請求項13】 R₁がHである請求項1記載の化合
物。

【請求項14】 R₁がCH₃である請求項1記載の化合
物。

【請求項15】 X₁がOまたはSである請求項1記載
の化合物。

【請求項16】 X₁がNHまたはNCH₃である請求項
1記載の化合物。

【請求項17】 X₂がOH、SHまたはNH₂である請
求項1記載の化合物。

40 【請求項18】 X₂がNHCH₃またはOHである請求
項1記載の化合物。

【請求項19】 請求項1記載の化合物および医薬的に
許容し得る担体からなる医薬組成物。

【請求項20】 構造：〔5-フルオロ-2-(1H-
テトラゾール-5-イル)-フェニル〕-(4-ヨード
-2-メチル-フェニル)-アミン；〔2,3-ジフル
オロ-6-(1H-テトラゾール-5-イル)-フェニ
ル〕-(4-ヨード-2-メチル-フェニル)-アミ
ン；〔4-ヨード-2-メチル-フェニル〕-(2,3,
50 4-トリフルオロ-6-(1H-テトラゾール-5-イ

10

20

30

10

A 5x5 grid of dots representing a sparse random distribution. The dots are scattered across the grid, with some clusters and many empty spaces.

-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-5-ニトロ
 -フェニル]-4H-[1,2,4]トリアゾール-3-
 イルアミン; 5-[4-フルオロ-2-(4-ヨード-
 2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル]-[1,3,
 4]チアジアゾール-2-チオール; 5-[3,4-ジ
 フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルア
 ミノ)-フェニル]-[1,3,4]チアジアゾール-2
 -チオール; 5-[3,4,5-トリフルオロ-2-(4
 -ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル]
 -[1,3,4]チアジアゾール-2-チオール; 5-
 [5-ブromo-3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨード
 -2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル]-[1,
 3,4]チアジアゾール-2-チオール; 5-[4-フル
 オロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミ
 ノ)-5-ニトロ-フェニル]-[1,3,4]チアジア
 ゾール-2-チオール; 5-[4-フルオロ-2-(4
 -ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル]
 -[1,3,4]オキサジアゾール-2-チオール; 5-
 [3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル
 -フェニルアミノ)-フェニル]-[1,3,4]オキサ
 ジアゾール-2-チオール; 5-[3,4,5-トリフル
 オロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミ
 ノ)-フェニル]-[1,3,4]オキサジアゾール-2
 -チオール; 5-[5-ブromo-3,4-ジフルオロ
 -2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フ
 ェニル]-[1,3,4]オキサジアゾール-2-チオー
 ル; 5-[4-フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチ
 ル-フェニルアミノ)-5-ニトロ-フェニル]-
 [1,3,4]オキサジアゾール-2-チオール; 5-
 [4-フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェ
 ニルアミノ)-フェニル]-4H-[1,2,4]トリア
 ザール-3-チオール; 5-[3,4-ジフルオロ-2
 -(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェ
 ニル]-4H-[1,2,4]トリアゾール-3-チオー
 ル; 5-[3,4,5-トリフルオロ-2-(4-ヨード
 -2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル]-4H-
 [1,2,4]トリアゾール-3-チオール; 5-[5-ブ
 romo-3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨード-2-メ
 チル-フェニルアミノ)-フェニル]-4H-[1,
 2,4]トリアゾール-3-チオール; または5-[4
 -フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニル
 アミノ)-5-ニトロ-フェニル]-4H-[1,2,
 4]トリアゾール-3-チオールを有する請求項1記載
 の化合物。

【請求項22】 構造: 5-[4-フルオロ-2-(4
 -ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル]
 -イソチアゾール-3-オール; 5-[3,4-ジフル
 オロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミ
 ノ)-フェニル]-イソチアゾール-3-オール; 5-
 [3,4,5-トリフルオロ-2-(4-ヨード-2-メ

チル-フェニルアミノ)-フェニル]-イソチアゾール
 -3-オール; 5-[5-ブromo-3,4-ジフルオロ
 -2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-
 フェニル]-イソチアゾール-3-オール; 5-[4-
 フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルア
 ミノ)-5-ニトロ-フェニル]-イソチアゾール-3
 -オール; 5-[4-フルオロ-2-(4-ヨード-2
 -メチル-フェニルアミノ)-フェニル]-イソキサ
 ザール-3-オール; 5-[3,4-ジフルオロ-2-
 (4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニ
 ル]-イソキサゾール-3-オール; 5-[3,4,5-
 トリフルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェ
 ニルアミノ)-フェニル]-イソキサゾール-3-オ
 ール; 5-[5-ブromo-3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨ
 ード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル]-イ
 ソキサゾール-3-オール; 5-[4-フルオロ-2-
 (4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-5-ニ
 トロ-フェニル]-イソキサゾール-3-オール; 5-
 [4-フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェ
 ニルアミノ)-フェニル]-1H-ピラゾール-3-オ
 ール; 5-[3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨード-
 2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル]-1H-ピ
 ラゾール-3-オール; 5-[3,4,5-トリフルオロ
 -2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フ
 ェニル]-1H-ピラゾール-3-オール; 5-[5-
 ブromo-3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨード-2-
 メチル-フェニルアミノ)-フェニル]-1H-ピラ
 ザール-3-オール; 5-[4-フルオロ-2-(4-
 ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-5-ニトロ-
 フェニル]-1H-ピラゾール-3-オール; 4-[4
 -フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニル
 アミノ)-フェニル]-イソチアゾール-3-オール;
 4-[3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨード-2-メ
 チル-フェニルアミノ)-フェニル]-イソチアゾール
 -3-オール; 4-[3,4,5-トリフルオロ-2-
 (4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェ
 ニル]-イソチアゾール-3-オール; 4-[5-ブromo
 -3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル
 -フェニルアミノ)-フェニル]-イソチアゾール-3
 -オール; 4-[4-フルオロ-2-(4-ヨード-2
 -メチル-フェニルアミノ)-5-ニトロ-フェニル]
 -イソチアゾール-3-オール; 4-[4-フルオロ-
 2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フ
 ェニル]-イソキサゾール-3-オール; 4-[3,4
 -ジフルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェ
 ニルアミノ)-フェニル]-イソキサゾール-3-オ
 ール; 4-[3,4,5-トリフルオロ-2-(4-ヨード
 -2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル]-イソキ
 サゾール-3-オール; 4-[5-ブromo-3,4-ジ
 フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルア

10

20

30

50

ン；3-〔4-フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-5-ニトロ-フェニル〕-2H-イソキサゾール-5-オン；〔5-フルオロ-2-(2-オキソ-2,3-ジヒドロ-2,1>4-〔1,2,3,5〕オキサチアジアゾール-4-イル)-フェニル〕-(4-ヨード-2-メチル-フェニル)-アミン；〔2,3-ジフルオロ-6-(2-オキソ-2,3-ジヒドロ-2,1>4-〔1,2,3,5〕オキサチアジアゾール-4-イル)-フェニル〕-(4-ヨード-2-メチル-フェニル)-アミン；〔4-ヨード-2-メチル-フェニル〕-〔2,3,4-トリフルオロ-6-(2-オキソ-2,3-ジヒドロ-2,1>4-〔1,2,3,5〕オキサチアジアゾール-4-イル)-フェニル〕-アミン；〔4-ブロモ-2,3-ジフルオロ-6-(2-オキソ-2,3-ジヒドロ-2,1>4-〔1,2,3,5〕オキサチアジアゾール-4-イル)-フェニル〕-(4-ヨード-2-メチル-フェニル)-アミン；〔5-フルオロ-4-ニトロ-2-(2-オキソ-2,3-ジヒドロ-2,1>4-〔1,2,3,5〕オキサチアジアゾール-4-イル)-フェニル〕-(4-ヨード-2-メチル-フェニル)-アミン；4-〔4-フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル〕-4H-イソキサゾール-5-オン；4-〔3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル〕-4H-イソキサゾール-5-オン；4-〔3,4,5-トリフルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル〕-4H-イソキサゾール-5-オン；4-〔5-ブロモ-3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル〕-4H-イソキサゾール-5-オン；または4-〔4-フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-5-ニトロ-フェニル〕-4H-イソキサゾール-5-オンを有する請求項1記載の化合物。

【請求項2.5】 請求項1記載の化合物を含有する組成物の医薬的に有効な量を、増殖性疾患の治療を必要とする患者に投与することからなる増殖性疾患を治療する方法。

【請求項2.6】 増殖性疾患が乾癬、再狭窄、自己免疫疾患およびアテローム性動脈硬化症から選択されたものである請求項2.5記載の方法。

【請求項2.7】 請求項1記載の化合物を含有する組成物の医薬的に有効な量を、癌の治療を必要とする患者に投与することからなる癌を治療する方法。

【請求項2.8】 癌がMEK-関連の癌である請求項2.7記載の方法。

【請求項2.9】 癌が、脳、乳房、肺、卵巣、脾臓、前立腺または結腸直腸癌である請求項2.7記載の方法。

【請求項3.0】 請求項1記載の化合物を含有する組成物の医薬的に有効な量を、発作の続発症の治療を必要と

する患者に投与することからなる発作の続発症を治療または軽減する方法。

【請求項3.1】 請求項1記載の化合物を含有する組成物の医薬的に有効な量を、心不全の続発症の治療を必要とする患者に投与することからなる心不全の続発症を治療または軽減する方法。

【請求項3.2】 請求項1記載の化合物を含有する組成物の医薬的に有効な量を、器官移植または骨髄移植患者に投与することからなる異種移植片拒絶の症状を治療または軽減する方法。

【請求項3.3】 請求項1記載の化合物を含有する組成物の医薬的に有効な量を、変形性関節症の治療を必要とする患者に投与することからなる変形性関節症を治療する方法。

【請求項3.4】 請求項1記載の化合物を含有する組成物の医薬的に有効な量を、慢性関節リウマチの治療を必要とする患者に投与することからなる慢性関節リウマチを治療する方法。

【請求項3.5】 請求項1記載の化合物を含有する組成物の医薬的に有効な量を、嚢胞性繊維症の治療を必要とする患者に投与することからなる嚢胞性繊維症を治療する方法。

【請求項3.6】 請求項1記載の化合物を含有する組成物の医薬的に有効な量を、肝腫の治療を必要とする患者に投与することからなる肝腫を治療する方法。

【請求項3.7】 請求項1記載の化合物を含有する組成物の医薬的に有効な量を、心臓肥大の治療を必要とする患者に投与することからなる心臓肥大を治療する方法。

【請求項3.8】 請求項1記載の化合物を含有する組成物の医薬的に有効な量を、アルツハイマー病の治療を必要とする患者に投与することからなるアルツハイマー病を治療する方法。

【請求項3.9】 請求項1記載の化合物を含有する組成物の医薬的に有効な量を、糖尿病の治療を必要とする患者に投与することからなる糖尿病を治療する方法。

【請求項4.0】 請求項1記載の化合物を含有する組成物の医薬的に有効な量を、敗血症性ショックの治療を必要とする患者に投与することからなる敗血症性ショックを治療する方法。

【請求項4.1】 請求項1記載の化合物を含有する組成物の医薬的に有効な量を、ウイルス感染の治療を必要とする患者に投与することからなるウイルス感染を治療する方法。

【請求項4.2】 感染がHIVの感染である請求項4.1記載の方法。

【請求項4.3】 (a)請求項1記載の化合物を含有する組成物の医薬的に有効な量を癌の治療を必要とする患者に投与し；そして(b)放射線療法および化学療法から選択された治療を行なうことからなる癌を治療する方法。

【請求項4.4】 化学療法が有糸分裂阻害剤からなる請

求項43記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】本発明は、ベンゾヘテロアリールのようなジアリールアミンに関するものである。

【0002】

【発明の背景】MEK酵素は、例えば免疫調節、炎症および増殖性疾患、例えば癌および再狭窄に関係する二重特異性 (dual specificity) キナーゼである。増殖性疾患は、細胞内シグナル伝達系またはある種の蛋白質のシグナル伝達 (signal transduction) 機構における欠陥 10 によって起こる。欠陥は、固有の活性またはシグナル伝達カスケードにおける1種または2種以上のシグナル伝達蛋白質の細胞の濃度の変化を包含する。細胞は、それ自体の受容体に結合する増殖因子を産生し、結果として連続的に増殖を刺激する自己分泌ループを生ずることができる。細胞内シグナル伝達蛋白質の突然変異また過剰発現は、細胞内における偽マイトジェンシグナルを導き 20 うる。もっとも普通の突然変異の若干は、GTPに結合したときに活性化され、GDPに結合したときに不活性化されるG-蛋白質であるRasとして知られている蛋白質をコード化する遺伝子において起こる。上述した増殖因子受容体および多くの他のマイトジェン受容体は、活性化されたときに、GDP-結合した状態からGTP-結合した状態に変換されるRasをもたらす。このシグナルは、大部分細胞型における増殖に対して絶対の必要条件である。このシグナル伝達系における、特にRas-GTP複合体の失活における欠陥は、癌において共通であり、Rasが慢性的に活性である下流へのシグナル伝達カスケードをもたらす。

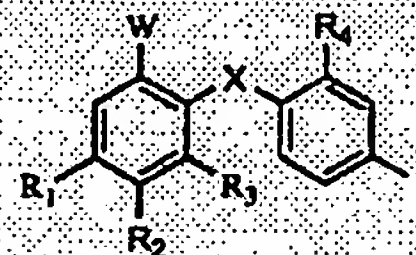
【0003】活性化されたRasは、次いでセリン/トレオニンキナーゼのカスケードの活性化をもたらす。それ自体の活性化に対して活性なRas-GTPを必要とすることが知られているキナーゼの群の一つは、Rafファミリーである。これらは、次いでMEK (例えばMEK₁およびMEK₂) を活性化し、それからMAPキナーゼ、ERK (ERK₁およびERK₂) を活性化する。マイトジェンによるMAPキナーゼの活性化は、増殖に対して必須であると思われ、このキナーゼの構成活性化は細胞のトランスフォーメーションを誘発するのに十分である。例えば慢性的な負のRaf-1蛋白質の使用による 40 下流Rasシグナル伝達の遮断は、細胞表面受容体から誘発されるかまたは発癌性のRas突然変異体から誘発される有糸分裂誘発を完全に阻害することができる。Rasはそれ自体蛋白質キナーゼではないが、それは多分

磷酸化機構によってRafおよび他のキナーゼの活性化に関与する。一度活性化されると、Rafおよび他のキナーゼは、MEK-1の場合における2個の非常に隣接したセリン基S¹⁸³およびS¹⁸⁵に対してMEKを磷酸化する。これは、キナーゼとしてのMEKの活性化に対して必要条件である。MEKは、次いで単一のアミノ酸によって分離されたチロシン、Y¹⁸⁵およびトレオニン基、T¹⁸³の両方に対してMAPキナーゼを磷酸化する。この二重の磷酸化は、MAPキナーゼを少なくとも 10 100倍活性化する。それから、活性化されたMAPキナーゼは、いくつかの転写因子および他のキナーゼを包含する多数の蛋白質の磷酸化を触媒することができる。これらのMAPキナーゼ磷酸化の多くは、キナーゼ、転写因子または他の細胞蛋白質のような標的蛋白質を有糸分裂誘発的に活性化する。Raf-1およびMEKKのほかに、他のキナーゼがMEKを活性化し、MEKそれ自体がシグナルインテグレーションキナーゼであると思われる。現在の理解は、MEKは、MAPキナーゼの磷酸化に対して非常に特異的であるということである。 20 事実、MAPキナーゼ、ERK以外のMEKに対する基質は現在まで証明されておらずそしてMEKは、MAPキナーゼ磷酸化配列に基づくペプチドを磷酸化しないかまたはさらに変性したMAPキナーゼを磷酸化しない。MEKはまた磷酸化する前のMAPキナーゼと強力に関係しており、MEKによるMAPキナーゼの磷酸化は、2種の蛋白質間の先の強力な相互作用を必要とする。MEKのこの必要条件および異常な特異性は、おそらくATP結合部位の普通の遮断によるよりもむしろアロステリック機構により操作されるMEKの選択的阻害剤を見出すことができるということとは、他の蛋白質キナーゼに対する作用の機構において十分な相違を有していることを示唆している。

【0004】

【発明の概要】本発明は、式(1)

【化3】



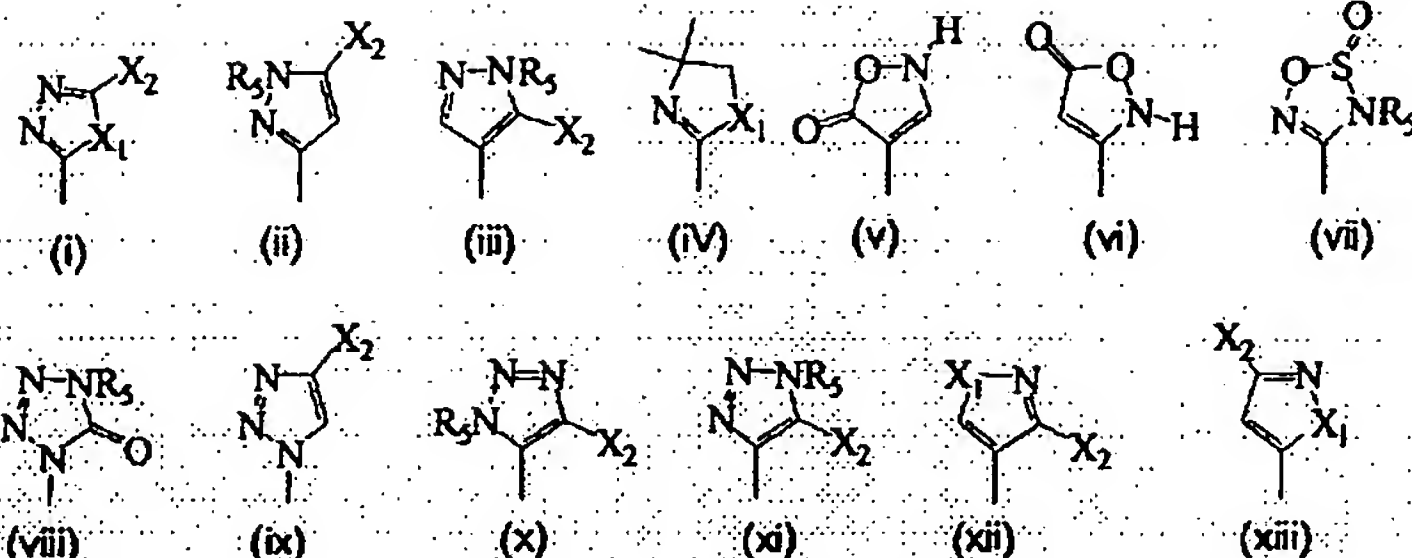
(1)

を有する化合物に関するものである。

【0005】上記式において、Wは、式(i)~(xiii)

【化4】

13



14

の1種である。 X_1 はO、Sまたは NR_1 である。 X_2 は、OH、SHまたは NHR_2 である。 R_1 および R_2 のそれぞれは、Hまたは C_{1-4} アルキルである。 R_3 および R_4 のそれぞれは、独立して、H、F、 NO_2 、BrおよびClから選択されたものである。 R_5 は、HおよびFから選択されたものである。 R_6 は、H、Clまたは C_{1-4} H₉である。 R_7 は、Hまたは C_{1-4} アルキルである。上述したそれぞれの炭化水素基は、場合によっては、独立してハロゲン、ヒドロキシル、アミノ、(アミノ)スルホニルおよび NO_2 から選択された1~3個の置換分によって置換されていてもよい。上述したそれぞれの複素環式基は、場合によっては、独立してハロゲン、 C_{1-4} アルキル、 C_{3-6} シクロアルキル、 C_{6-10} アルケニル、 C_{6-10} アルキニル、フェニル、ヒドロキシル、アミノ、(アミノ)スルホニルおよび NO_2 から選択された1~3個の置換分によって置換されていてもよく、そしてそれぞれの置換分アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニルまたはフェニルは、場合によっては、独立してハロゲン、 C_{1-4} アルキル、ヒドロキシル、アミノおよび NO_2 から選択された1~2個の置換分によって置換されていてもよい。

【0006】本発明は、また、開示した化合物の医薬的に許容し得る塩または C_{1-4} エステルを包含する。例えば、開示したアルコール化合物は、ヒドロキシ基のHを $-C(=O)C_{1-4}$ アシル基で置換することによって得られる構造を有するエステルを形成することができる。本発明は、また、(a)式(1)の化合物および(b)医薬的に許容し得る担体を含有する医薬組成物に関するものである。

【0007】さらに、本発明は、増殖性疾患、例えば癌、再狭窄、乾癬、自己免疫疾患およびアテローム性動脈硬化症を治療する方法に関するものである。本発明の他の態様は、固形または造血性のMEK-関連(ラズ-関連を包含する)癌を治療する方法を包含する。癌の例は、結腸直腸癌、頸癌、乳癌、卵巣癌、脳癌、急性白血病、胃癌、非-小細胞肺(non-small cell lung)癌、膵臓癌および肺癌を包含する。本発明の他の態様は、異種移植片(器官または骨髄移植)拒絶、変形性関節症、慢性関節リウマチ、嚢胞性線維症、糖尿病(糖尿病性網膜症を包含する)、肝腫、心臓肥大、発作(例えば、急性ホ-カル虚血性発作および全脳虚血)、心不全、敗血

10 症性ショック、喘息およびアルツハイマー病の症状を治療または軽減する方法を包含する。本発明の化合物は、また、HIV、肝炎(B)ウイルス(HBV)、ヒトの乳頭腫ウイルス(HPV)、レオウイルス、サイトメガロウイルス(CMV)およびエプスタイン-バーウイルス(EBV)のようなウイルス感染を治療する抗ウイルス剤として有用である。これらの方法は、開示した化合物またはその医薬組成物の医薬的に有効な量を、このような治療を必要とするかまたはこのような疾患または状態にかかった患者に投与する工程を包含する。

20 【0008】また、本発明は、方法がさらに放射線療法または化学療法、例えばタキサンまたはビンカアルカロイドのような有糸分裂阻害剤を使用することを包含する癌の治療方法のような組み合わせ治療方法に関するものである。化学療法または放射線療法は、患者の要求によって、開示した化合物の投与前、投与時または投与後に行うことができる。本発明は、また、本明細書に開示した合成方法の特徴とする。本発明の他の態様は、以下の説明および実施例、および特許請求の範囲に示される通りである。

30 【0009】

【発明の詳細】本発明は、ジアリアルアミン化合物、その医薬組成物、およびこのような化合物および組成物を使用する方法に関するものである。本発明の一態様によれば、化合物は、MEK阻害剤である。MEK阻害アッセイは、米国特許第5,525,625号の第6欄36行~第7欄4行に記載されているMAPキナーゼ経路の阻害剤に対するインビトロカスケードアッセイおよび同特許の第7欄4~27行に記載されているインビトロMEKアッセイを包含する。これらの特許の全体の開示を参照として本明細書に組み入れる(また、以下の実施例2~7参照)。全細胞アッセイは、実施例5において以下に記載する通りである。

【0010】A. 用語

ある種の用語は、本明細書を通じて以下の通り定義される。アルキル基は、遊離原子価を有する脂肪族基(すなわち、水素および炭素原子を含有するヒドロカルビルまたは炭化水素基構造)を包含する。アルキル基は、直鎖状および分枝鎖状の構造を包含するものであることは明らかである。例としては、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、n-ブチル、イソブチル、t-

50

ブチル、ペンチル、イソペンチル、2,3-ジメチルブチル、ヘキシル、2,3-ジメチルヘキシル、1,1-ジメチルペンチル、ヘプチルおよびオクチルを包含する。シクロアルキル基は、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチルおよびシクロオクチルが含まれる。

【0011】アルキル基は、独立してハロゲン（弗素、塩素、臭素または沃素）、ヒドロキシ、アミノ、アルコキシ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、シクロアルキル、アリール、アリーロキシ、アリールアルキルオキシ、複素環式基および（複素環式基）オキシから選択された1個、2個、3個またはそれ以上の置換分により置換されていてもよい。具体的な例としては、フルオロメチル、ヒドロキシエチル、2,3-ジヒドロキシエチル、（2-または3-フラニル）メチル、シクロプロピルメチル、ベンジルオキシエチル、（3-ビリジニル）メチル、（2-または3-フラニル）メチル、（2-チエニル）エチル、ヒドロキシプロピル、アミノシクロヘキシル、2-ジメチルアミノブチル、メトキシメチル、N-ビリジニルエチル、ジエチルアミノエチルおよびシクロブチルメチルが含まれる。

【0012】アルケニル基は、少なくとも1個の二重結合（2個の隣接SP²炭素原子）を有する以外は、アルキル基に類似している。二重結合および置換分（存在する場合）の配置によって、二重結合の幾何学的形態は、エントゲゲン（E）またはツザンメン（Z）、シスまたはトランスであることができる。同様に、アルキニル基は、少なくとも1個の三重結合（2個の隣接SP炭素原子）を有している。不飽和のアルケニルまたはアルキニル基は、それぞれ1個または2個以上の二重結合または三重結合またはその混合を有することができる。アルキル基と同様に、不飽和基は、直鎖状または分枝鎖状であることができそしてこれらは、アルキルに対して上述したようにおよび実施例による開示により記載したように置換されていてもよい。アルケニル、アルキニルおよび置換された形態の例としては、シス-2-ブテニル、トランス-2-ブテニル、3-ブチニル、3-フェニル-2-プロピニル、3-（2-フルオロフェニル）-2-プロピニル、3-メチル（5-フェニル）-4-ペンチニル、2-ヒドロキシ-2-プロピニル、2-メチル-2-プロピニル、2-プロペニル、4-ヒドロキシ-3-ブチニル、3-（3-フルオロフェニル）-2-プロピニルおよび2-メチル-2-プロペニルが含まれる。式（1）において、アルケニルおよびアルキニル基は、例えばC₂、またはC₃、好ましくはC₄、またはC₅であることができる。

【0013】置換された炭化水素基のより一般的な形態は、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシアルケニル、ヒドロキシアルキニル、ヒドロキシシクロアルキル、ヒドロキシアリール、および接頭語のアミノ-、ハロー（例え

ばフルオロー、クロローまたはブロモ-）、ニトロ-、アルキル-、フェニル-、シクロアルキル-などまたは置換分の組み合わせに相当する形態を包含する。それ故に、式（1）によれば、置換されたアルキルは、ヒドロキシアルキル、アミノアルキル、ニトロアルキル、ハロアルキル、アルキルアルキル（分枝鎖状のアルキル、例えばメチルペンチル）、（シクロアルキル）アルキル、フェニルアルキル、アルコキシ、アルキルアミノアルキル、ジアルキルアミノアルキル、アリールアルキル、アリーロキシアルキル、アリールアルキルオキシアルキル、（複素環式基）アルキル、および（複素環式基）オキシアルキルを包含する。すなわち、R₁は、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシアルケニル、ヒドロキシアルキニル、ヒドロキシシクロアルキル、ヒドロキシアリール、アミノアルキル、アミノアルケニル、アミノアルキニル、アミノシクロアルキル、アミノアリール、アルキルアルケニル、（アルキルアリール）アルキル、（ハロアリール）アルキル、（ヒドロキシアリール）アルキニルなどを包含する。同様に、R₂は、ヒドロキシアルキルおよびアミノアリールを包含しそしてR₃は、ヒドロキシアルキル、アミノアルキル、およびヒドロキシアルキル（複素環式基）アルキルなどを包含する。

【0014】ヘテロアリールに限定されるものではないが含まれる複素環式基は、フリル、オキサゾリル、イソキサゾリル、チオフェニル、チアゾリル、ピロリル、イミダゾリル、1,3,4-トリアゾリル、テトラゾリル、ビリジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、インドリルおよびこれらの非芳香族の同等基を包含する。複素環式基の他の例としては、ビペリジル、キノリル、イソチアゾリル、ビペリジニル、モルホリニル、ビペラジニル、テトラヒドロフリル、テトラヒドロピロリル、ピロリジニル、オクタヒドロインドリル、オクタヒドロベンゾチオフラニルおよびオクタヒドロベンゾフラニルが含まれる。

【0015】B. 化合物

本発明の態様は、発明の概要の項において式（1）で示された開示化合物に関するものである。本発明の実施態様は、（a）R₁が臭素または塩素であり；（b）R₁が弗素であり；（c）R₂がHであり；（d）R₂およびR₃のそれぞれがHであり；（e）R₁およびR₂のそれぞれが弗素であり；（f）R₁が臭素であり；（g）R₁、R₂およびR₃のそれぞれが弗素であり；（h）R₁がニトロであり；（i）R₂がHであり；（j）R₂が塩素であり；（k）R₂がメチルであり；（l）R₂がHであり；（m）R₂がCH₃であり；（n）X₁がOまたはSであり；（o）X₁がNHまたはNCH₃であり；（p）X₂がOH、SHまたはNH₂であり；（q）X₂がOHであり；（r）X₂がNHR₂であり；（s）R₂がHであり；（t）R₂が塩素またはメチルであり；またはこれらの組み合わせである化合物を包含する。好ましく

は、複素環式基上の置換分の1個がアルケニルまたはアルキニル基である場合は、二重結合または三重結合は、それぞれ、それがヘテロ原子である場合の結合の点に隣接していない。例えば、このような状態においては、置換分は、好ましくはプロブ-2-イニルまたはブト-2-もしくは3-エニルであり、そしてやや好適にはプロブ-1-イニルまたはブト-1-エニルである。

【0016】化合物の例としては、〔5-フルオロ-2-
- (1H-テトラゾール-5-イル) -フェニル〕 -
- (4-ヨード-2-メチル-フェニル) -アミン； 10
〔2,3-ジフルオロ-6- (1H-テトラゾール-5-
-イル) -フェニル〕 - (4-ヨード-2-メチル-フェ
ニル) -アミン； (4-ヨード-2-メチル-フェニ
ル) -〔2,3,4-トリフルオロ-6- (1H-テトラ
ゾール-5-イル) -フェニル〕 -アミン；〔4-プロ
モ-2,3-ジフルオロ-6- (1H-テトラゾール-
5-イル) -フェニル〕 - (4-ヨード-2-メチル-
フェニル) -アミン；〔5-フルオロ-4-ニトロ-2-
- (1H-テトラゾール-5-イル) -フェニル〕 -
- (4-ヨード-2-メチル-フェニル) -アミン；〔2 20
- (4,4-ジメチル-4,5-ジヒドロ-オキサゾール
-2-イル) -5-フルオロ-フェニル〕 - (4-ヨ
ード-2-メチル-フェニル) -アミン；〔6- (4,4-
ジメチル-4,5-ジヒドロ-オキサゾール-2-イ
ル) -2,3-ジフルオロ-フェニル〕 - (4-ヨ
ード-2-メチル-フェニル) -アミン；〔6- (4,4-
ジメチル-4,5-ジヒドロ-オキサゾール-2-イ
ル) -2,3,4-トリフルオロ-フェニル〕 - (4-ヨ
ード-2-メチル-フェニル) -アミン；〔4-プロモ
-6- (4,4-ジメチル-4,5-ジヒドロ-オキサゾ
ール-2-イル) -2,3-ジフルオロ-フェニル〕 -
- (4-ヨード-2-メチル-フェニル) -アミン；〔2
- (4,4-ジメチル-4,5-ジヒドロ-オキサゾール
-2-イル) -5-フルオロ-4-ニトロ-フェニル〕
- (4-ヨード-2-メチル-フェニル) -アミン；5
-〔4-フルオロ-2- (4-ヨード-2-メチル-フェ
ニルアミノ) -フェニル〕 -〔1,3,4〕チアジアゾ
ール-2-オール；5-〔3,4-ジフルオロ-2-
- (4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ) -フェニ
ル〕 -〔1,3,4〕チアジアゾール-2-オール；5- 40
〔3,4,5-トリフルオロ-2- (4-ヨード-2-メ
チル-フェニルアミノ) -フェニル〕 -〔1,3,4〕チ
アジアゾール-2-オール；5-〔5-プロモ-3,4-
ジフルオロ-2- (4-ヨード-2-メチル-フェニ
ルアミノ) -フェニル〕 -〔1,3,4〕チアジアゾ
ール-2-オール；5-〔4-フルオロ-2- (4-ヨ
ード-2-メチル-フェニルアミノ) -5-ニトロ-フェ
ニル〕 -〔1,3,4〕チアジアゾール-2-オール；5-
〔4-フルオロ-2- (4-ヨード-2-メチル-フェ
ニルアミノ) -フェニル〕 -〔1,3,4〕オキサジ
アゾール-2-オール；5-〔5-プロモ-3,4-ジ
フルオロ-2- (4-ヨード-2-メチル-フェニル
アミノ) -フェニル〕 -〔1,3,4〕オキサジ
アゾール-2-オール；5-〔4-フルオロ-2- (4-ヨ
ード-2-メチル-フェニルアミノ) -フェニル〕 -
〔1,3,4〕オキサジアゾール-2-オール；5- 50
〔5-プロモ-3,4-ジフルオロ-2- (4-ヨ
ード-2-メチル-フェニルアミノ) -フェニル〕 -〔1,
3,4〕オキサジアゾール-2-オール；5-〔4

ール-2-オール；5-〔3,4-ジフルオロ-2-
- (4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ) -フェニ
ル〕 -〔1,3,4〕オキサジアゾール-2-オール；5
-〔3,4,5-トリフルオロ-2- (4-ヨード-2-
メチル-フェニルアミノ) -フェニル〕 -〔1,3,4〕
オキサジアゾール-2-オール；5-〔5-プロモ-
3,4-ジフルオロ-2- (4-ヨード-2-メチル-
フェニルアミノ) -フェニル〕 -〔1,3,4〕オキサジ
アゾール-2-オール；5-〔4-フルオロ-2- (4-
ヨード-2-メチル-フェニルアミノ) -5-ニトロ
-フェニル〕 -〔1,3,4〕オキサジアゾール-2-オ
ール；5-〔4-フルオロ-2- (4-ヨード-2-メ
チル-フェニルアミノ) -フェニル〕 -4H-〔1,2,
4〕トリアゾール-3-オール；5-〔3,4-ジフル
オロ-2- (4-ヨード-2-メチル-フェニルアミ
ノ) -フェニル〕 -4H-〔1,2,4〕トリアゾール-
3-オール；5-〔3,4,5-トリフルオロ-2- (4-
ヨード-2-メチル-フェニルアミノ) -フェニル〕
-4H-〔1,2,4〕トリアゾール-3-オール；5-
〔5-プロモ-3,4-ジフルオロ-2- (4-ヨード
-2-メチル-フェニルアミノ) -フェニル〕 -4H-
〔1,2,4〕トリアゾール-3-オール；および5-
〔4-フルオロ-2- (4-ヨード-2-メチル-フェ
ニルアミノ) -5-ニトロ-フェニル〕 -4H-〔1,
2,4〕トリアゾール-3-オールが含まれる。

【0017】さらに例としては、5-〔4-フルオロ-
2- (4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ) -フェ
ニル〕 -〔1,3,4〕チアジアゾール-2-イルアミ
ン；5-〔3,4-ジフルオロ-2- (4-ヨード-2-
メチル-フェニルアミノ) -フェニル〕 -〔1,3,
4〕チアジアゾール-2-イルアミン；5-〔3,4,5-
トリフルオロ-2- (4-ヨード-2-メチル-フェ
ニルアミノ) -フェニル〕 -〔1,3,4〕チアジアゾ
ール-2-イルアミン；5-〔5-プロモ-3,4-ジフ
ルオロ-2- (4-ヨード-2-メチル-フェニルアミ
ノ) -フェニル〕 -〔1,3,4〕チアジアゾール-2-
イルアミン；5-〔4-フルオロ-2- (4-ヨード-
2-メチル-フェニルアミノ) -5-ニトロ-フェニ
ル〕 -〔1,3,4〕チアジアゾール-2-イルアミン；
5-〔4-フルオロ-2- (4-ヨード-2-メチル-
フェニルアミノ) -フェニル〕 -〔1,3,4〕オキサジ
アゾール-2-イルアミン；5-〔3,4-ジフルオロ
-2- (4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ) -
フェニル〕 -〔1,3,4〕オキサジアゾール-2-イ
ルアミン；5-〔3,4,5-トリフルオロ-2- (4-ヨ
ード-2-メチル-フェニルアミノ) -フェニル〕 -
〔1,3,4〕オキサジアゾール-2-イルアミン；5-
〔5-プロモ-3,4-ジフルオロ-2- (4-ヨード
-2-メチル-フェニルアミノ) -フェニル〕 -〔1,
3,4〕オキサジアゾール-2-イルアミン；5-〔4

-フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニル
 アミノ)-5-ニトロ-フェニル}-{1,3,4}オキ
 サジアゾール-2-イルアミン; 5-{4-フルオロ-
 2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フ
 ェニル}-4H-{1,2,4}トリアゾール-3-イル
 アミン; 5-{3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨード-
 2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル}-4H-
 {1,2,4}トリアゾール-3-イルアミン; 5-
 {3,4,5-トリフルオロ-2-(4-ヨード-2-メ
 チル-フェニルアミノ)-フェニル}-4H-{1,2,
 4}トリアゾール-3-イルアミン; 5-{5-プロモ
 -3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル
 -フェニルアミノ)-フェニル}-4H-{1,2,4}
 トリアゾール-3-イルアミン; 5-{4-フルオロ-
 2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-5
 -ニトロ-フェニル}-4H-{1,2,4}トリアゾ
 ール-3-イルアミン; 5-{4-フルオロ-2-(4-
 ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル}-
 {1,3,4}チアジアゾール-2-チオール; 5-
 {3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル
 -フェニルアミノ)-フェニル}-{1,3,4}チアジ
 アゾール-2-チオール; 5-{3,4,5-トリフルオ
 ロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-
 フェニル}-{1,3,4}チアジアゾール-2-チオ
 ール; 5-{5-プロモ-3,4-ジフルオロ-2-
 (4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニ
 ル}-{1,3,4}チアジアゾール-2-チオール; 5-
 {4-フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フ
 ェニルアミノ)-5-ニトロ-フェニル}-{1,3,
 4}チアジアゾール-2-チオール; 5-{4-フルオ
 ロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-
 フェニル}-{1,3,4}オキサジアゾール-2-チ
 オール; 5-{3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨード-
 2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル}-{1,
 3,4}オキサジアゾール-2-チオール; 5-{3,
 4,5-トリフルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル
 -フェニルアミノ)-フェニル}-{1,3,4}オキサ
 ジアゾール-2-チオール; 5-{5-プロモ-3,4-
 ジフルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニ
 ルアミノ)-フェニル}-{1,3,4}オキサジアゾ
 ール-2-チオール; 5-{4-フルオロ-2-(4-ヨ
 ード-2-メチル-フェニルアミノ)-5-ニトロ-フ
 ェニル}-{1,3,4}オキサジアゾール-2-チオ
 ール; 5-{4-フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチ
 ル-フェニルアミノ)-フェニル}-4H-{1,2,
 4}トリアゾール-3-チオール; 5-{3,4-ジフ
 ルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミ
 ノ)-フェニル}-4H-{1,2,4}トリアゾール-
 3-チオール; 5-{3,4,5-トリフルオロ-2-
 (4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニ

ル}-4H-{1,2,4}トリアゾール-3-チオー
 ル; 5-{5-プロモ-3,4-ジフルオロ-2-(4-
 ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル}
 -4H-{1,2,4}トリアゾール-3-チオール; お
 よび5-{4-フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチ
 ル-フェニルアミノ)-5-ニトロ-フェニル}-4H
 -{1,2,4}トリアゾール-3-チオールが含まれ
 る。

【0018】追加的な例は、5-{4-フルオロ-2-
 (4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニ
 ル}-イソチアゾール-3-オール; 5-{3,4-ジ
 フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルア
 ミノ)-フェニル}-イソチアゾール-3-オール; 5-
 {3,4,5-トリフルオロ-2-(4-ヨード-2-
 メチル-フェニルアミノ)-フェニル}-イソチアゾ
 ール-3-オール; 5-{5-プロモ-3,4-ジフルオ
 ロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-
 フェニル}-イソチアゾール-3-オール; 5-{4-
 フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニル
 アミノ)-5-ニトロ-フェニル}-イソチアゾール-
 3-オール; 5-{4-フルオロ-2-(4-ヨード-
 2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル}-イソキサ
 ゾール-3-オール; 5-{3,4-ジフルオロ-2-
 (4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニ
 ル}-イソキサゾール-3-オール; 5-{3,4,5-
 トリフルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニ
 ルアミノ)-フェニル}-イソキサゾール-3-オール;
 5-{5-プロモ-3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨ
 ード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル}-イ
 ソキサゾール-3-オール; 5-{4-フルオロ-2-
 (4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-5-ニ
 トロ-フェニル}-イソキサゾール-3-オール; 5-
 {4-フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェ
 ニルアミノ)-フェニル}-1H-ピラゾール-3-オ
 ール; 5-{3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨード-
 2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル}-1H-ピ
 ラゾール-3-オール; 5-{3,4,5-トリフルオロ
 -2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-
 フェニル}-1H-ピラゾール-3-オール; 5-{5
 -プロモ-3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨード-2-
 メチル-フェニルアミノ)-フェニル}-1H-ピラ
 ゾール-3-オール; 5-{4-フルオロ-2-(4-
 ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-5-ニトロ-
 フェニル}-1H-ピラゾール-3-オール; 4-{4-
 フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニル
 アミノ)-フェニル}-イソチアゾール-3-オール;
 4-{3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨード-2-メ
 チル-フェニルアミノ)-フェニル}-イソチアゾール
 -3-オール; 4-{3,4,5-トリフルオロ-2-
 (4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニ

ル) - イソチアゾール-3-オール; 4-〔5-プロモ
-3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル
-フェニルアミノ)-フェニル〕 - イソチアゾール-3
-オール; 4-〔4-フルオロ-2-(4-ヨード-2
-メチル-フェニルアミノ)-5-ニトロ-フェニル〕
- イソチアゾール-3-オール; 4-〔4-フルオロ-
2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フ
ェニル〕 - イソキサゾール-3-オール; 4-〔3,4
-ジフルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニ
ルアミノ)-フェニル〕 - イソキサゾール-3-オー
ル; 4-〔3,4,5-トリフルオロ-2-(4-ヨード
-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル〕 - イソキ
サゾール-3-オール; 4-〔5-プロモ-3,4-ジ
フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルア
ミノ)-フェニル〕 - イソキサゾール-3-オール; 4
-〔4-フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フ
ェニルアミノ)-5-ニトロ-フェニル〕 - イソキサ
ゾール-3-オール; 4-〔4-フルオロ-2-(4-ヨ
ード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル〕 - 1
-メチル-1H-ピラゾール-3-オール; 4-〔3,
4-ジフルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェ
ニルアミノ)-フェニル〕 - 1-メチル-1H-ピラゾ
ール-3-オール; 1-メチル-4-〔3,4,5-トリ
フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルア
ミノ)-フェニル〕 - 1H-ピラゾール-3-オール;
4-〔5-プロモ-3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨ
ード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル〕 - 1
-メチル-1H-ピラゾール-3-オール; および 4-
〔4-フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェ
ニルアミノ)-5-ニトロ-フェニル〕 - 1-メチル-
1H-ピラゾール-3-オールである。

【0019】本発明はまた、5-〔2-(2-アミノ-
4-ヨード-フェニルアミノ)-4-フルオロ-フェニ
ル〕 - 1-メチル-1H-〔1,2,3〕トリアゾール-
4-オール; 5-〔2-(2-アミノ-4-ヨード-フ
ェニルアミノ)-3,4-ジフルオロ-フェニル〕 - 1
-メチル-1H-〔1,2,3〕トリアゾール-4-オー
ル; 5-〔2-(2-アミノ-4-ヨード-フェニルア
ミノ)-3,4,5-トリフルオロ-フェニル〕 - 1-メ
チル-1H-〔1,2,3〕トリアゾール-4-オール; 40
5-〔2-(2-アミノ-4-ヨード-フェニルアミ
ノ)-5-プロモ-3,4-ジフルオロ-フェニル〕 -
1-メチル-1H-〔1,2,3〕トリアゾール-4-オー
ル; 5-〔2-(2-アミノ-4-ヨード-フェニル
アミノ)-4-フルオロ-5-ニトロ-フェニル〕 - 1
-メチル-1H-〔1,2,3〕トリアゾール-4-オー
ル; 5-〔4-フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチ
ル-フェニルアミノ)-フェニル〕 - 3-メチル-3H
-〔1,2,3〕トリアゾール-4-オール; 5-〔3,
4-ジフルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェ
50

ニルアミノ)-フェニル〕 - 3-メチル-3H-〔1,
2,3〕トリアゾール-4-オール; 3-メチル-5-
〔3,4,5-トリフルオロ-2-(4-ヨード-2-メ
チル-フェニルアミノ)-フェニル〕 - 3H-〔1,2,
3〕トリアゾール-4-オール; 5-〔5-プロモ-
3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-
フェニルアミノ)-フェニル〕 - 3-メチル-3H-
〔1,2,3〕トリアゾール-4-オール; 5-〔4-フ
ルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミ
ノ)-5-ニトロ-フェニル〕 - 3-メチル-3H-
〔1,2,3〕トリアゾール-4-オール; 4-〔4-フ
ルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミ
ノ)-フェニル〕 - 2-メチル-2H-ピラゾール-3
-オール; 4-〔3,4-ジフルオロ-2-(4-ヨ
ード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル〕 - 2-
メチル-2H-ピラゾール-3-オール; 2-メチル-
4-〔3,4,5-トリフルオロ-2-(4-ヨード-2
-メチル-フェニルアミノ)-フェニル〕 - 2H-ピラ
ゾール-3-オール; 4-〔5-プロモ-3,4-ジフ
ルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミ
ノ)-フェニル〕 - 2-メチル-2H-ピラゾール-3
-オール; 4-〔4-フルオロ-2-(4-ヨード-2
-メチル-フェニルアミノ)-5-ニトロ-フェニル〕
- 2-メチル-2H-ピラゾール-3-オール; 1-
〔4-フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェ
ニルアミノ)-フェニル〕 - 4-メチル-1,4-ジヒ
ドロ-テトラゾール-5-オン; 1-〔3,4-ジフル
オロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミ
ノ)-フェニル〕 - 4-メチル-1,4-ジヒドロ-テ
トラゾール-5-オン; 1-メチル-4-〔3,4,5-
トリフルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェ
ニルアミノ)-フェニル〕 - 1,4-ジヒドロ-テトラゾ
ール-5-オン; 1-〔5-プロモ-3,4-ジフルオ
ロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)
-フェニル〕 - 4-メチル-1,4-ジヒドロ-テトラ
ゾール-5-オン; 1-〔4-フルオロ-2-(4-ヨ
ード-2-メチル-フェニルアミノ)-5-ニトロ-フ
ェニル〕 - 4-メチル-1,4-ジヒドロ-テトラゾ
ール-5-オン; 1-〔4-フルオロ-2-(4-ヨード
-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル〕 - 1H-
〔1,2,3〕トリアゾール-4-オール; 1-〔3,4
-ジフルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル-フェ
ニルアミノ)-フェニル〕 - 1H-〔1,2,3〕トリアゾ
ール-4-オール; 1-〔3,4,5-トリフルオロ-2
-(4-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェ
ニル〕 - 1H-〔1,2,3〕トリアゾール-4-オー
ル; 1-〔5-プロモ-3,4-ジフルオロ-2-(4
-ヨード-2-メチル-フェニルアミノ)-フェニル〕
- 1H-〔1,2,3〕トリアゾール-4-オール; およ
び 1-〔4-フルオロ-2-(4-ヨード-2-メチル

ーフェニルアミノ)ー5ーニトローフェニル)ー1Hー
〔1,2,3〕トリアゾールー4ーオールのような化合物
を特徴とする。

【0020】さらに、本発明の例としては、3ー〔4ー
フルオロー2ー(4ーヨードー2ーメチルーフェニルア
ミノ)ーフェニル)ー2Hーイソキサゾールー5ーオ
ン; 3ー〔3,4ージフルオロー2ー(4ーヨードー2
ーメチルーフェニルアミノ)ーフェニル)ー2Hーイソ
キサゾールー5ーオン; 3ー〔3,4,5ートリフルオロ
ー2ー(4ーヨードー2ーメチルーフェニルアミノ)ー
フェニル)ー2Hーイソキサゾールー5ーオン; 3ー
〔5ーブロモー3,4ージフルオロー2ー(4ーヨード
ー2ーメチルーフェニルアミノ)ーフェニル)ー2Hーイ
ソキサゾールー5ーオン; 3ー〔4ーフルオロー2ー
(4ーヨードー2ーメチルーフェニルアミノ)ー5ーニ
トローフェニル)ー2Hーイソキサゾールー5ーオン;
〔5ーフルオロー2ー(2ーオキソー2,3ージヒドロ
ー2,1>4ー〔1,2,3,5〕オキサチアジアゾールー
4ーイル)ーフェニル)ー(4ーヨードー2ーメチルー
フェニル)ーアミン; 〔2,3ージフルオロー6ー(2
ーオキソー2,3ージヒドロー2,1>4ー〔1,2,3,
5〕オキサチアジアゾールー4ーイル)ーフェニル)ー
(4ーヨードー2ーメチルーフェニル)ーアミン; (4
ーヨードー2ーメチルーフェニル)ー〔2,3,4ートリ
フルオロー6ー(2ーオキソー2,3ージヒドロー2,1
>4ー〔1,2,3,5〕オキサチアジアゾールー4ーイル)
ーフェニル)ーアミン; (4ーブロモー2,3ージフル

オロー6ー(2ーオキソー2,3ージヒドロー2,1>4
ー〔1,2,3,5〕オキサチアジアゾールー4ーイル)
ーフェニル)ー(4ーヨードー2ーメチルーフェニル)
ーアミン; 〔5ーフルオロー4ーニトロー2ー(2ーオ
キソー2,3ージヒドロー2,1>4ー〔1,2,3,5〕
オキサチアジアゾールー4ーイル)ーフェニル)ー(4
ーヨードー2ーメチルーフェニル)ーアミン; 4ー〔4
ーフルオロー2ー(4ーヨードー2ーメチルーフェニル
アミノ)ーフェニル)ー4Hーイソキサゾールー5ーオ
ン; 4ー〔3,4ージフルオロー2ー(4ーヨードー2
ーメチルーフェニルアミノ)ーフェニル)ー4Hーイソ
キサゾールー5ーオン; 4ー〔3,4,5ートリフルオロ
ー2ー(4ーヨードー2ーメチルーフェニルアミノ)ー
フェニル)ー4Hーイソキサゾールー5ーオン; 4ー
〔5ーブロモー3,4ージフルオロー2ー(4ーヨード
ー2ーメチルーフェニルアミノ)ーフェニル)ー4Hー
イソキサゾールー5ーオン; および4ー〔4ーフルオロ
ー2ー(4ーヨードー2ーメチルーフェニルアミノ)ー
5ーニトローフェニル)ー4Hーイソキサゾールー5ー
オンが含まれる。

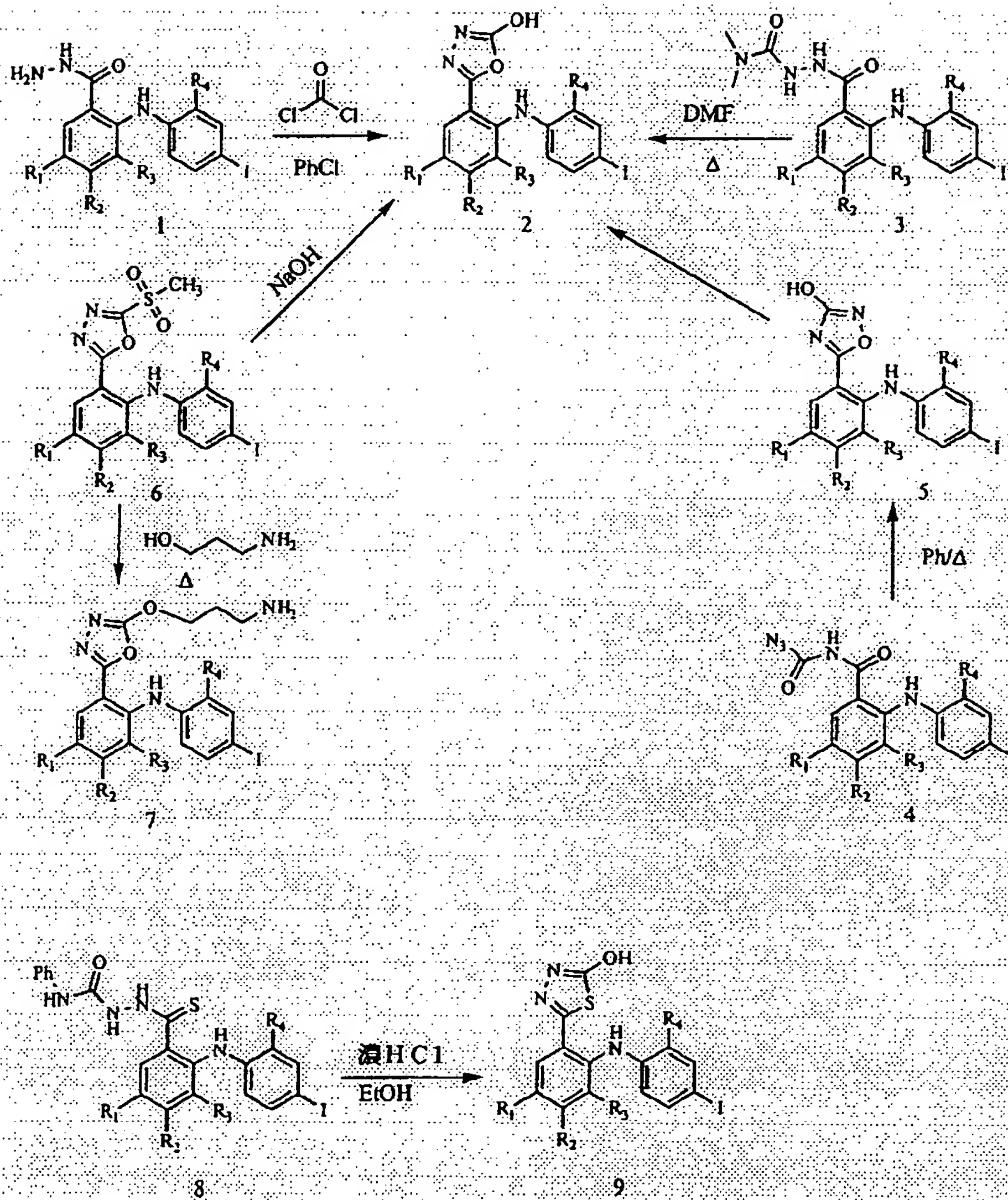
【0021】C. 合成

開示した化合物は、スキーム1~5またはその同様な変
形方法によって合成することができる。これらの合成方
法は、さらに以下の実施例1において説明される。

【0022】

【化5】

スキーム 1



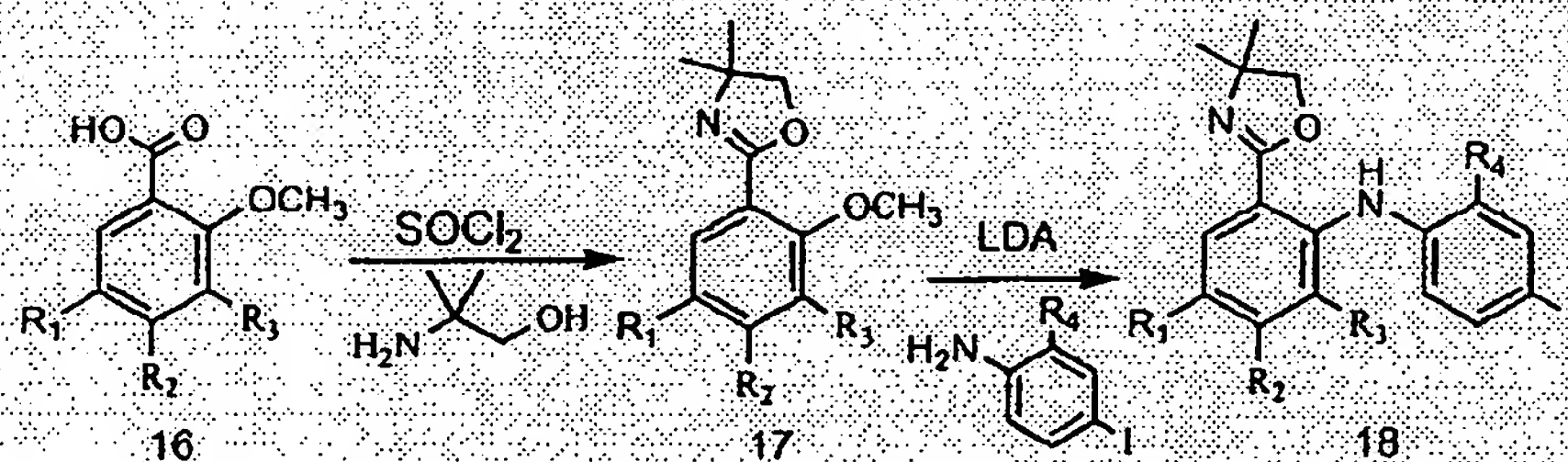
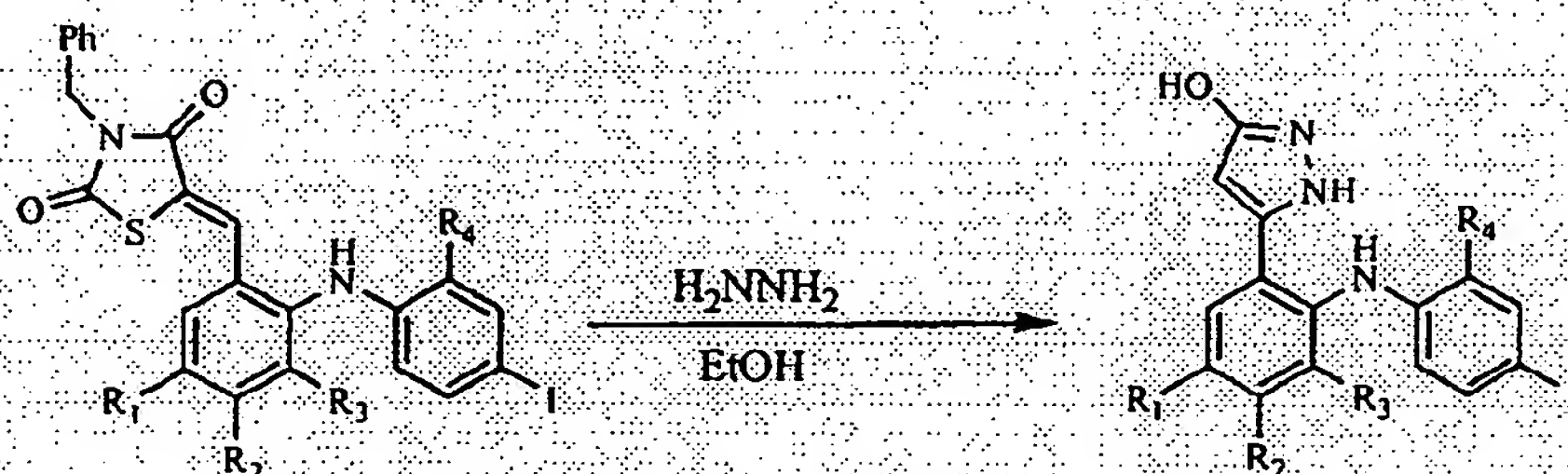
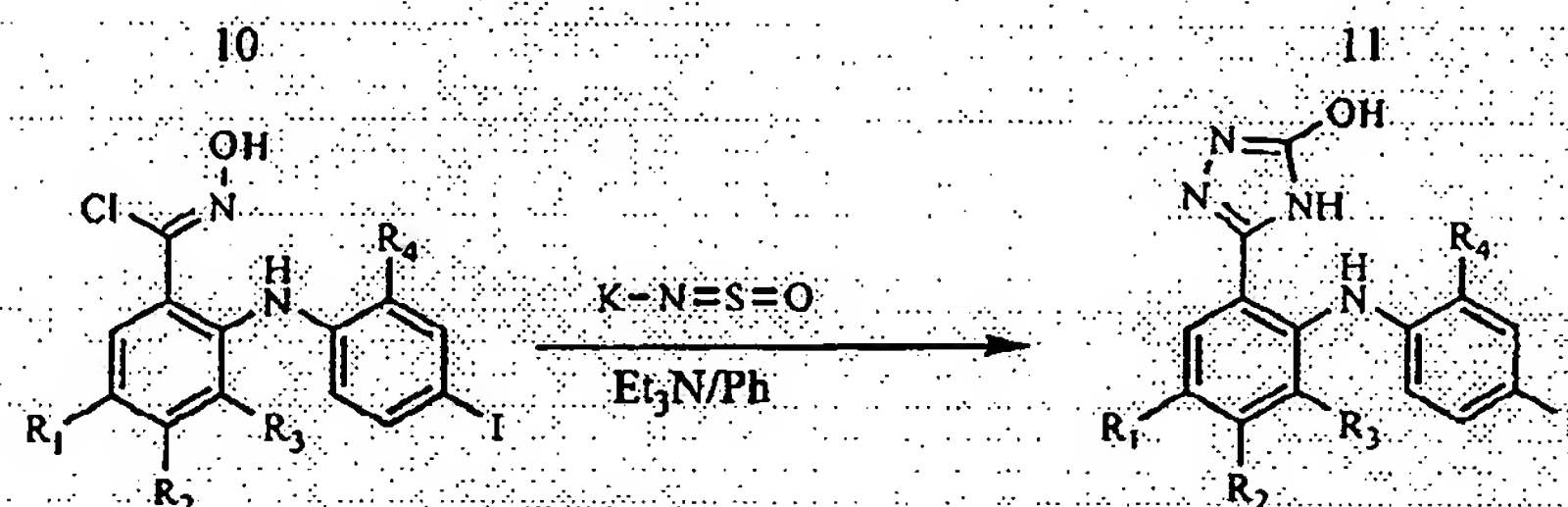
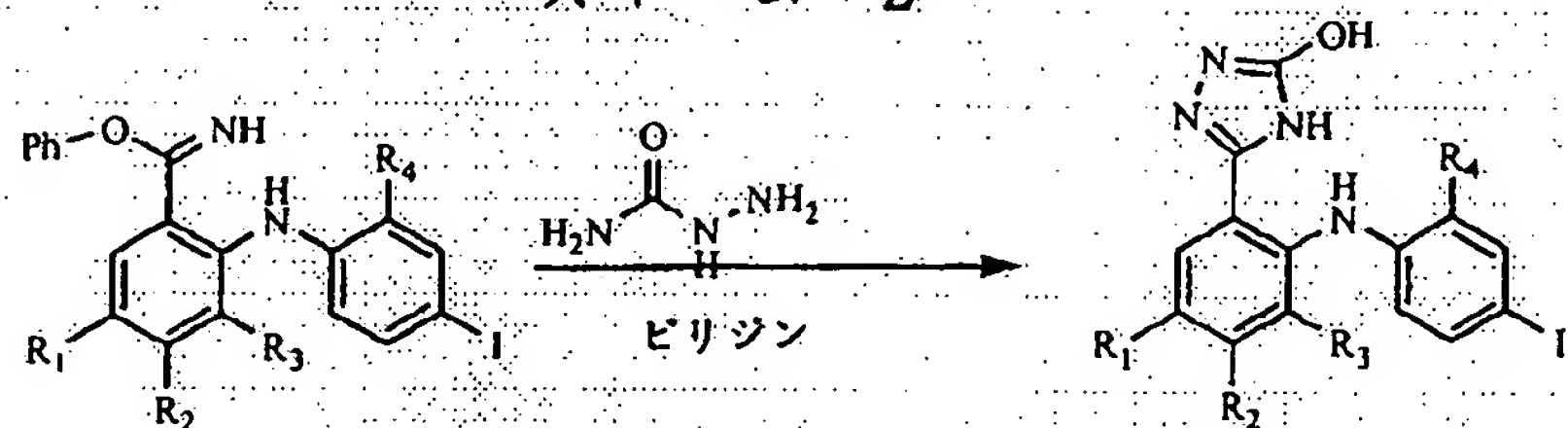
[0023]

[化6]

27

28

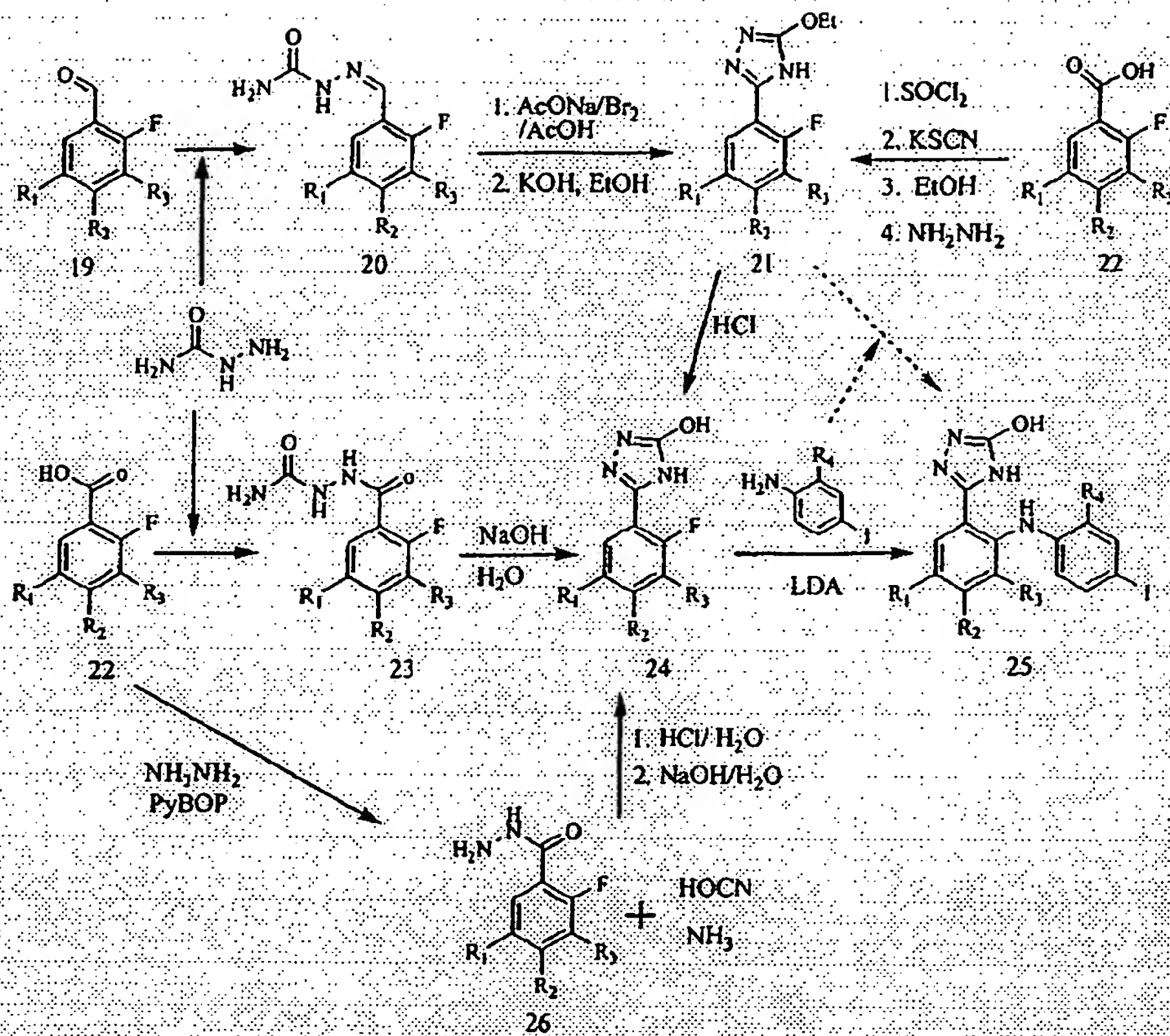
スキーム 2



[0024]

[化7]

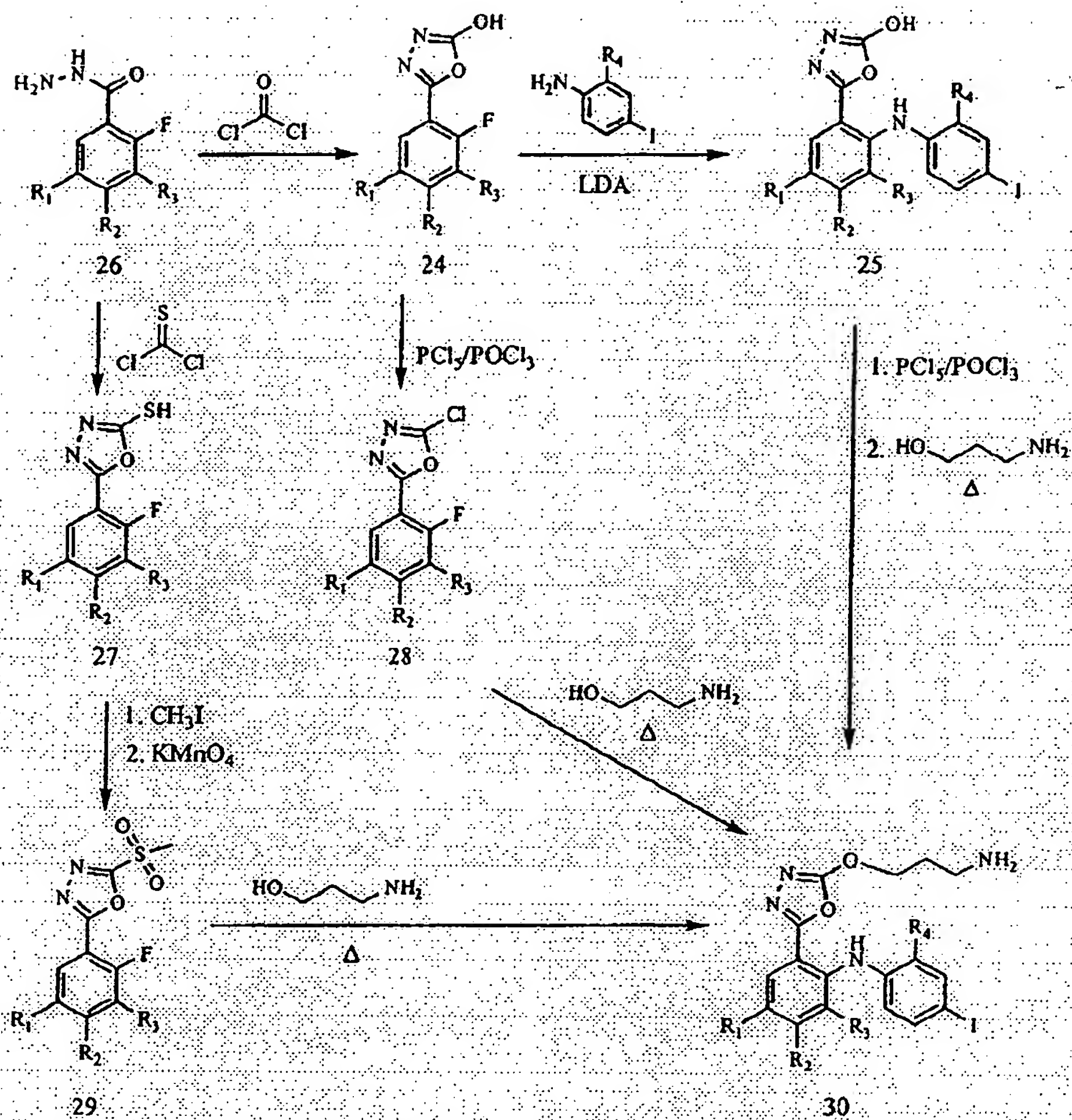
スキーム 3



[0025]

[化8]

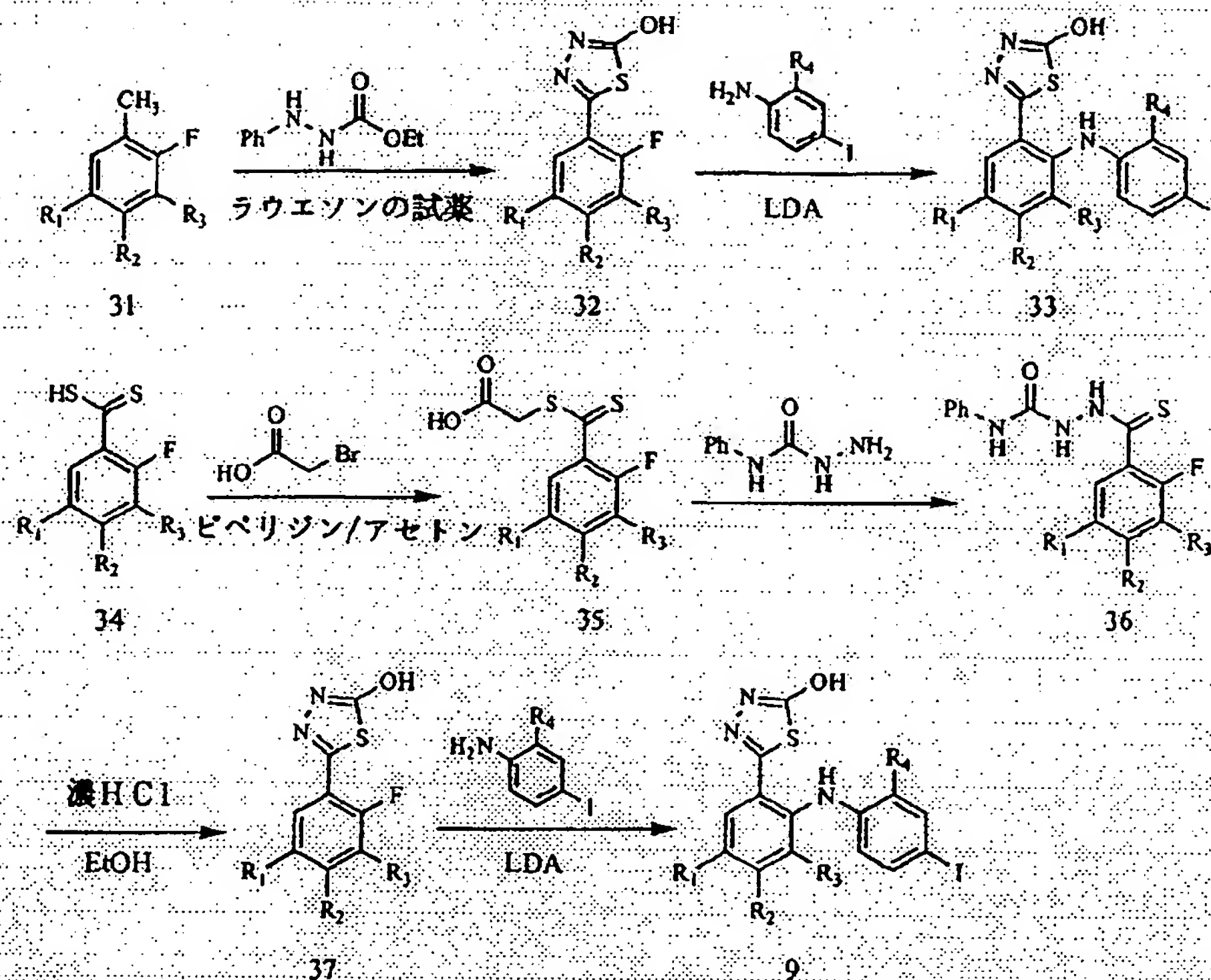
スキーム 4



[0.026]

[化9]

スキーム 5



【0027】D. 使用

開示した組成物は、発明の概要の項において記載したような疾患または状態、ならびにMEKカスケードによって調節される疾患または状態に対する予防的および治療的処置に有用である。疾患の例は、発作、心不全、変形性関節症、慢性関節リウマチ、器官移植拒絶および卵巣、肺、脾臓、脳、前立腺および結腸直腸腫瘍のような種々の腫瘍を包含する。

【0028】1. 使用量

当業者は、年齢、体重、総体的健康状態、治療を必要とする疼痛の型および他の投薬の存在のような因子を考慮して、既知の方法によって、患者に対する適当な使用量を決定することができる。一般に、有効な量は、1日につき体重1kg当たり0.1~100.0mg、好適には体重1kg当たり1~30.0mgの間にありそして1日当たりの使用量は、普通の体重の成人患者に対して10~500.0mgの間にある。100mg、200mg、300mgまたは400mgの商業的に入手できるカプセル剤または他の処方物（例えば、液体およびフィルム-被覆した錠剤）を、開示した方法によって投与することができる。

【0029】2. 処方物

投与単位形態は、錠剤、カプセル剤、丸剤、散剤、顆粒剤、水性および非水性の経口用溶液および懸濁液、および個々の投与量に小分けするのに適した容器に充填した非経口用溶液を包含する。投与単位形態は、また、皮

下移植のような調節された放出処方物を包含する種々の投与方法に適応させることもできる。投与方法は、経口的、直腸的、非経口的（静脈内的、筋肉内的、皮下的）、槽内的、腔内的、腹腔内的、膀胱内的、局所的（点滴、散剤、軟膏、ゲルまたはクリーム）投与および吸入（口腔内または鼻スプレー）を包含する。

【0030】非経口的処方物は、医薬的に許容し得る水性または非水性溶液、分散液、懸濁液、乳濁液およびこれらを製造するための滅菌粉末を包含する。担体の例は、水、エタノール、ポリオール（プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、植物油および注射できる有機エステル、例えばオレイン酸エチルを包含する。流動性は、レシチン、界面活性剤のようなコーティングの使用によってまたは適当な粒子の大きさを維持することによって維持することができる。固体の投与形態に対する担体は、（a）充填剤または増量剤、（b）結合剤、（c）保湿剤、（d）崩壊剤、（e）溶液遅延剤、（f）吸収促進剤、（g）吸着剤、（h）滑沢剤、（i）緩衝剤および（j）噴射剤を包含する。組成物は、また、補助剤、例えば防腐剤、湿潤剤、乳化剤および分散剤；抗菌剤、例えばパラベン、クロロブタノール、フェノールおよびソルビン酸；等張剤、例えば糖または塩化ナトリウム；吸収-延長剤、例えばモノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチン；および吸収-増強剤を含有することもできる。

【0031】3. 関連した化合物

本発明は、開示した化合物および開示した化合物の密接に関連した医薬的に許容し得る形態、例えばその塩、エステル、アミド、水和または溶媒和形態；マスクされたまたは保護された形態；およびラセミ混合物またはエナンチオマー的にまたは光学的に純粋な形態を提供する。

【0032】医薬的に許容し得る塩、エステルおよびアミドは、合理的な利点／リスク比内にあり、薬理学的に有効でありそして不当な毒性、刺激またはアレルギー応答なしに患者の組織と接触させるのに適当であるカルボキシレート塩(例えば、 C_{1-6} アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘフロアリール、非芳香族複素環式)、アミノ酸付加塩、エステルおよびアミドを包含する。代表的な塩は、臭化水素酸塩、塩酸塩、硫酸塩、重硫酸塩、硝酸塩、酢酸塩、蔞酸塩、吉草酸塩、オレイン酸塩、バルミチン酸塩、ステアリン酸塩、ラウリン酸塩、硼酸塩、安息香酸塩、乳酸塩、磷酸塩、トシレート、クエン酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、ナフチレート、メシレート、グルコヘプトネート、ラクチオビオネートおよびラウリルスルホン酸塩を包含する。これらは、アルカリ金属およびアルカリ土類金属陽イオン、例えばナトリウム、カリウム、カルシウムおよびマグネシウム、ならびに非毒性のアンモニウム、第4級アンモニウム、およびアミン陽イオン、例えばテトラメチルアンモニウム、メチルアミン、トリメチルアミンおよびエチルアミンを包含することができる。例えば、参照として本明細書に組み入れるS.M. Berge等、"Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci., 1977, 66: 1-19参照。本発明の代表的な医薬的に許容し得るアミドは、アンモニア、第1級 C_{1-6} アルキルアミンおよび第2級ジ(C_{1-6} アルキル)アミンから誘導されたものである。第2級アミンは、少なくとも1個の窒素原子および場合によっては1~2個の追加的なヘテロ原子を含有する5-または6-員の複素環式またはヘテロ芳香族環部分を包含する。好ましいアミドは、アンモニア、 C_{1-6} アルキル第1級アミンおよびジ(C_{1-6} アルキル)アミンから誘導される。本発明の代表的な医薬的に許容し得るエステルは、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} シクロアルキル、フェニルおよびフェニル(C_{1-6})アルキルエステルを包含する。好ましいエステルは、メチルエステルを包含する。

【0033】本発明は、また、保護基によってマスクされた1個または2個以上の官能基(例えばヒドロキシル、アミノまたはカルボキシル)を有する開示された化合物を包含する。これらのマスクされたまたは保護された化合物の若干は、医薬的に許容することができそして他の化合物は、中間体として有用である。本明細書において開示された合成中間体および方法およびそれらのわずかの改変もまた本発明の範囲内にある。

【0034】ヒドロキシル保護基

ヒドロキシル保護基は、エーテル、エステルおよび1,2-および1,3-ジオールに対する保護を包含する。

エーテル保護基は、メチル、置換されたメチルエーテル、置換されたエチルエーテル、置換されたベンジルエーテル、シリルエーテルおよび他の官能基へのシリルエーテルの変換を包含する。

【0035】置換されたメチルエーテル

置換されたメチルエーテルは、メトキシメチル、メチルチオメチル、*t*-ブチルチオメチル、(フェニルジメチルシリル)メトキシメチル、ベンジロキシメチル、*p*-エトキシベンジロキシメチル、(4-メトキシフェノキシ)メチル、グアイアコールメチル、*t*-ブトキシメチル、4-ベンテニロキシメチル、シロキシメチル、2-メトキシエトキシメチル、2,2,2-トリクロロエトキシメチル、ビス(2-クロロエトキシ)メチル、2-(トリメチルシリル)エトキシメチル、テトラヒドロピラニル、3-ブromotetraヒドロピラニル、テトラヒドロチオピラニル、1-メトキシシクロヘキシル、4-メトキシテトラヒドロピラニル、4-メトキシテトラヒドロチオピラニル、*S,S*-ジオキンド、1-[(2-クロロ-4-メチル)フェニル]-4-メトキシビベリジン-4-イル、1,4-ジオキサシ-2-イル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロチオフラニル、および2,3,3a,4,5,6,7,7a-オクタヒドロ-7,8,8-トリメチル-4,7-エタノベンゾフラン-2-イルを包含する。

【0036】置換されたエチルエーテル

置換されたエチルエーテルは、1-エトキシエチル、1-(2-クロロエトキシ)エチル、1-メチル-1-メトキシエチル、1-メチル-1-ベンジロキシエチル、1-メチル-1-ベンジロキシ-2-フルオロエチル、2,2,2-トリクロロエチル、2-トリメチルシリエチル、2-(フェニルセレン)エチル、*t*-ブチル、アリル、*p*-クロロフェニル、*p*-メトキシフェニル、2,4-ジニトロフェニル、およびベンジルを包含する。

【0037】置換されたベンジルエーテル

置換されたベンジルエーテルは、*p*-メトキシベンジル、3,4-ジメトキシベンジル、*o*-ニトロベンジル、*p*-ニトロベンジル、*p*-ハロベンジル、2,6-ジクロロベンジル、*p*-シアノベンジル、*p*-フェニルベンジル、2-および4-ピコリル、3-メチル-2-ピコリル*N*-オキンド、ジフェニルメチル、*p,p'*-ジニトロベンズヒドリル、5-ジベンゾスベリル、トリフェニルメチル、 α -ナフチルジフェニルメチル、*p*-メトキシフェニルジフェニルメチル、ジ(*p*-メトキシフェニル)フェニルメチル、トリ-(*p*-メトキシフェニル)メチル、4-(4'-ブromofenylオキシ)フェニルジフェニルメチル、4,4',4''-トリス

(4,5-ジクロロフタルイミド-フェニル)メチル、4,4',4"-トリス(レブリノイルオキシ-フェニル)メチル、4,4',4"-トリス(ベンゾイルオキシ-フェニル)メチル、3-(イミダゾール-1-イルメチル)-ビス(4',4"-ジメトキシフェニル)-メチル、1,1-ビス(4-メトキシフェニル)-1'-ビレニルメチル、9-アントリル、9-(9-フェニル)キサンテニル、9-(9-フェニル-10-オキソ)アントリル、1,3-ベンゾジチオラン-2-イル、およびベンズイソチアゾリルS,S-ジオキシドを包含する。

【0038】シリルエーテル

シリルエーテルは、トリメチルシリル、トリエチルシリル、トリイソプロピルシリル、ジメチルイソプロピルシリル、ジエチルイソプロピルシリル、ジメチルテキシルシリル、t-ブチルジメチルシリル、t-ブチルジフェニルシリル、トリベンジルシリル、トリ-p-キシリルシリル、トリフェニルシリル、ジフェニルメチルシリル、およびt-ブチルメトキシ-フェニルシリルを包含する。

【0039】エステル

エステル保護基は、エステル、カーボネート、補助開裂(assisted cleavage)、種々雑多なエステルおよびスルホン酸エステルを包含する。

エステル

保護エステルの例は、ホルメート、ベンゾイルホルメート、アセテート、クロロアセテート、ジクロロアセテート、トリクロロアセテート、トリフルオロアセテート、メトキシアセテート、トリフェニルメトキシアセテート、フェノキシアセテート、p-クロロフェノキシアセテート、p-P-フェニルアセテート、3-フェニルプロピオネート、4-オキソペンタノエート(レブリネート)、4,4-(エチレンジチオ)ペンタノエート、ヒバロエート、アダマントエート、クロトネート、4-メトキシクロトネート、ベンゾエート、p-フェニルベンゾエート、および2,4,6-トリメチルベンゾエート(メシトエート)を包含する。

【0040】カーボネート

カーボネートは、メチル、9-フルオレニルメチル、エチル、2,2,2-トリクロロエチル、2-(トリメチルシリル)エチル、2-(フェニルスルホニル)エチル、2-(トリフェニルホスホニオ)エチル、イソブチル、ピニル、アリル、p-ニトロフェニル、ベンジル、p-メトキシベンジル、3,4-ジメトキシベンジル、o-ニトロベンジル、p-ニトロベンジル、S-ベンジルチオカーボネート、4-エトキシ-1-ナフチル、およびメチルジチオカーボネートを包含する。

【0041】補助開裂

補助開裂保護基の例は、2-ヨードベンゾエート、4-アジドブチレート、4-ニトロ-4-メチルペンタノエ

ート、o-(ジブロモメチル)ベンゾエート、2-ホルミルベンゼン-スルホネート、2-(メチルチオメトキシ)エチルカーボネート、4-(メチルチオメトキシメチル)ベンゾエート、および2-(メチルチオメトキシメチル)ベンゾエートを包含する。

【0042】種々雑多なエステル

上述したクラスに加えて、種々雑多なエステルは、2,6-ジクロロ-4-メチルフェノキシアセテート、2,6-ジクロロ-4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノキシアセテート、2,4-ビス(1,1-ジメチルプロピル)フェノキシアセテート、クロロジフェニルアセテート、イソブチレート、モノサクシノエート、(E)-2-メチル-2-ブテノエート(チグロエート)、o-(メトキシカルボニル)ベンゾエート、p-P-ベンゾエート、 α -ナフトエート、ナイトレート、アルキルN,N,N',N'-テトラメチル-ホスホロジアミデート、N-フェニルカルバメート、ボレート、ジメチルホスフィノチオイル、および2,4-ジニトロフェニルスルフェネートを包含する。

20 スルホネート

保護サルフェートは、サルフェート、メタンスルホネート(メシレート)、ベンジルスルホネートおよびトシレートを包含する。

【0043】1,2-および1,3-ジオールに対する保護

1,2-および1,3-ジオール基に対する保護は、環状アセタールおよびケタール、環状オルトエステルおよびシリル誘導体を包含する。

環状アセタールおよびケタール

30 環状アセタールおよびケタールは、メチレン、エチリデン、1-t-ブチルエチリデン、1-フェニルエチリデン、(4-メトキシフェニル)エチリデン、2,2,2-トリクロロエチリデン、アセトニド(イソプロピリデン)、シクロペンチリデン、シクロヘキシリデン、シクロヘプチリデン、ベンジリデン、p-メトキシベンジリデン、2,4-ジメトキシベンジリデン、3,4-ジメトキシベンジリデン、および2-ニトロベンジリデンを包含する。

【0044】環状オルトエステル

40 環状オルトエステルは、メトキシメチレン、エトキシメチレン、ジメトキシメチレン、1-メトキシエチリデン、1-エトキシエチリデン、1,2-ジメトキシエチリデン、 α -メトキシベンジリデン、1-(N,N-ジメチルアミノ)エチリデン誘導体、 α -(N,N-ジメチルアミノ)ベンジリデン誘導体、および2-オキサシクロペンチリデンを包含する。

【0045】カルボキシル基に対する保護

エステル

50 エステル保護基は、エステル、置換されたメチルエステル、2-置換されたエチルエステル、置換されたベンジ

ルエステル、シリルエステル、活性化されたエステル、種々雑多な誘導体、およびスタニルエステルを包含する。

【0046】置換されたメチルエステル

置換されたメチルエステルは、9-フルオレニルメチル、メトキシメチル、メチルチオメチル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロフラニル、メトキシエトキシメチル、2-(トリメチルシリル)エトキシメチル、ベンジルオキシメチル、フェナシル、p-プロモフェナシル、 α -メチルフェナシル、p-メトキシフェナシル、カルボキサミドメチル、およびN-フタルイミドメチルを包含する。

【0047】2-置換されたエチルエステル

2-置換されたエチルエステルは、2,2,2-トリクロロエチル、2-ハロエチル、 ω -クロロアルキル、2-(トリメチルシリル)エチル、2-メチルチオエチル、1,3-ジチアニル-2-メチル、2-(p-ニトロフェニルスルフェニル)-エチル、2-(p-トルエンシルホニル)エチル、2-(2'-ビリジル)エチル、2-(ジフェニルホスフィノ)エチル、1-メチル-1-フェニルエチル、t-ブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、アリル、3-ブテン-1-イル、4-(トリメチルシリル)-2-ブテン-1-イル、シンナミル、 α -メチルシンナミル、フェニル、p-(m-メチルメルカプト)-フェニル、およびベンジルを包含する。

【0048】置換されたベンジルエステル

置換されたベンジルエステルは、トリフェニルメチル、ジフェニルメチル、ビス(o-ニトロフェニル)メチル、9-アントリルメチル、2-(9,10-ジオキソ)アントリルメチル、5-ジベンゾースベリル、1-ビレニルメチル、2-(トリフルオロメチル)-6-クロミルメチル、2,4,6-トリメチル-ベンジル、p-プロモベンジル、o-ニトロベンジル、p-ニトロベンジル、p-メトキシベンジル、2,6-ジメトキシベンジル、4-(メチルスルフィニル)ベンジル、4-スルホベンジル、ピペロニル、および4-P-ベンジルを包含する。

シリルエステル

シリルエステルは、トリメチルシリル、トリエチルシリル、t-ブチルジメチルシリル、i-プロピルジメチルシリル、フェニルジメチルシリル、およびジ-t-ブチルメチルシリルを包含する。

【0049】種々雑多な誘導体

種々雑多な誘導体は、オキサゾール、2-アルキル-1,3-オキサゾリン、4-アルキル-5-オキソ-1,3-オキサゾリジン、5-アルキル-4-オキソ-1,3-ジオキサラン、オルトエステル、フェニル基、およびベンタアミノコバルト(III)複合体を包含する。

スタニルエステル

スタニルエステルの例は、トリエチルスタニルおよびト

リーn-ブチルスタニルを包含する。

【0050】アミドおよびヒドラジド

アミドは、N,N-ジメチル、ピロリジニル、ヒペリジニル、5,6-ジヒドロフェナントリジニル、o-ニトロアニリド、N-7-ニトロインドリル、N-8-ニトロ-1,2,3,4-テトラヒドロキノリル、およびp-P-ベンゼンスルホンアミドを包含する。ヒドラジドは、N-フェニル、N,N'-ジイソプロピルおよび他のジアルキルヒドラジドを包含する。

【0051】アミノ基に対する保護

カルバメート

カルバメートは、カルバメート、置換されたエチル、補助開裂、光分解開裂、尿素型誘導体、および種々雑多なカルバメートを包含する。

カルバメート

カルバメートは、メチルおよびエチル、9-フルオレニルメチル、9-(2-スルホ)フルオレニルメチル、9-(2,7-ジプロモ)フルオレニルメチル、2,7-ジ-t-ブチル-[9-(10,10-ジオキソ-10,10,10,10-テトラヒドロ-チオキサニル)メチル、および4-メトキシフェナシルを包含する。

【0052】置換されたエチル

置換されたエチル保護基は、2,2,2-トリクロロエチル、2-トリメチルシリルエチル、2-フェニルエチル、1-(1-アダマンチル)-1-メチルエチル、1,1-ジメチル-2-ハロエチル、1,1-ジメチル-2,2-ジプロモエチル、1,1-ジメチル-2,2,2-トリクロロエチル、1-メチル-1-(4-ビフェニリル)エチル、1-(3,5-ジ-t-ブチルフェニル)-1-メチルエチル、2-(2'-および4'-ビリジル)エチル、2-(N,N-ジシクロヘキシルカルボキサミド)-エチル、t-ブチル、1-アダマンチル、ヒニル、アリル、1-イソプロピルアリル、シンナミル、4-ニトロシンナミル、キノリル、N-ヒドロキシヒペリジニル、アルキルジチオ、ベンジル、p-メトキシベンジル、p-ニトロベンジル、p-プロモベンジル、p-クロロベンジル、2,4-ジクロロベンジル、4-メチルスルフィニルベンジル、9-アントリルメチル、およびジフェニルメチルを包含する。

【0053】補助開裂

補助開裂による保護は、2-メチルチオエチル、2-メチルスルホニルエチル、2-(p-トルエンシルホニル)エチル、[2-(1,3-ジチアニル)]メチル、4-メチルチオフェニル、2,4-ジメチル-チオフェニル、2-ホスホニオエチル、2-トリフェニルホスホニオイソプロピル、1,1-ジメチル-2-シアノエチル、m-クロロ-p-アシルオキシベンジル、p-(ジヒドロキシボリル)ベンジル、5-ベンズイソキサゾリル-メチル、および2-(トリフルオロメチル)-6-クロモニルメチルを包含する。

【0054】光分解開裂

光分解開裂法は、*m*-ニトロフェニル、3,5-ジメトキシベンジル、*o*-ニトロベンジル、3,4-ジメトキシ-6-ニトロベンジル、およびフェニル(*o*-ニトロフェニル)メチルのような基を使用する。

尿素型誘導体

尿素型誘導体の例は、フェノチアジニル-(1,0)-カルボニル誘導体、N'-*p*-トルエンスルホニルアミノカルボニル、およびN'-フェニルアミノチオカルボニルを包含する。

【0055】種々雑多なカルバメート

上述したほかに、種々雑多なカルバメートは、*t*-アミル、*S*-ベンジルチオカルバメート、*p*-シアノベンジル、シクロブチル、シクロヘキシル、シクロペンチル、シクロプロピルメチル、*p*-デシルオキシベンジル、ジイソプロピルメチル、2,2-ジメトキシカルボニルビニル、*o*-(N,N-ジメチルカルボキサミド)-ベンジル、1,1-ジメチル-3-(N,N-ジメチルカルボキサミド)プロピル、1,1-ジメチル-プロピニル、ジ(2-ピリジル)メチル、2-フラニルメチル、2-ヨードエチル、イソボルニル、イソブチル、イソニコチニル、*p*-(*p*'-メトキシフェニルアゾ)ベンジル、1-メチルシクロブチル、1-メチルシクロヘキシル、1-メチル-1-シクロプロピル-メチル、1-メチル-(3,5-ジメトキシフェニル)エチル、1-メチル-1-(*p*-ヘニルアゾフェニル)-エチル、1-メチル-1-フェニルエチル、1-メチル-1-(4-ピリジル)エチル、フェニル、*p*-(フェニルアゾ)ベンジル、2,4,6-トリ-*t*-ブチルフェニル、4-(トリメチルアンモニウム)ベンジル、および2,4,6-トリメチルベンジルを包含する。

【0056】アミド

アミド

アミドは、N-ホルミル、N-アセチル、N-クロロアセチル、N-トリクロロアセチル、N-トリフルオロアセチル、N-フェニルアセチル、N-3-フェニルプロピオニル、N-ビコリノイル、N-3-ピリジルカルボキサミド、N-ベンゾイルフェニルアラニル誘導体、N-ベンゾイル、およびN-*p*-フェニルベンゾイルを包含する。

【0057】補助開裂

補助開裂基は、N-*o*-ニトロフェニルアセチル、N-*o*-ニトロフェノキシアセチル、N-アセトアセチル、(N'-ジチオベンジルオキシカルボニルアミノ)アセチル、N-3-(*p*-ヒドロキシフェニル)プロピオニル、N-3-(*o*-ニトロフェニル)プロピオニル、N-2-メチル-2-(*o*-ニトロフェノキシ)プロピオニル、N-2-メチル-2-(*o*-フェニルアゾフェノキシ)プロピオニル、N-4-クロロブチリル、N-3-メチル-3-ニトロブチリル、N-*o*-ニトロシンナ

モイル、N-アセチルメチオニン誘導体、N-*o*-ニトロベンゾイル、N-*o*-(ベンゾイルオキシメチル)ベンゾイル、および4,5-ジフェニル-3-オキサゾリン-2-オンを包含する。

【0058】環状イミド誘導体

環状イミド誘導体は、N-フタルイミド、N-ジチアサクシノイル、N-2,3-ジフェニルマレオイル、N-2,5-ジメチルピロリル、N-1,1,4,4-テトラメチル-ジシリルアザシクロペンタン付加物、5-置換された1,3-ジメチル-1,3,5-トリアザシクロヘキサ-2-オン、5-置換された1,3-ジベンジル-1,3,5-トリアザシクロヘキサ-2-オン、および1-置換された3,5-ジニトロ-4-ピリドニルを包含する。

【0059】特別な-NH保護基

-NHに対する保護基は、N-アルキルおよびN-アリールアミン、イミン誘導体、エナミン誘導体、およびN-ヘテロ原子誘導体(例えばN-金属、N-N、N-P、N-Si、およびN-S)、N-スルフェニル、およびN-スルホニルを包含する。

【0060】N-アルキルおよびN-アリールアミン

N-アルキルおよびN-アリールアミンは、N-メチル、N-アリル、-{2-(トリメチルシリル)エトキシル}-メチル、N-3-アセトキシプロピル、N-(1-イソプロピル-4-ニトロ-2-オキソ-3-ピロリン-3-イル)、第4級アンモニウム塩、N-ベンジル、N-ジ(4-メトキシフェニル)メチル、N-5-ジベンゾスベリル、N-トリフェニルメチル、N-(4-メトキシフェニル)ジフェニルメチル、N-9-フェニルフルオレニル、N-2,7-ジクロロ-9-フルオレニルメチレン、N-フェロセニルメチル、およびN-2-ビコリルアミンN'-オキシドを包含する。

【0061】イミン誘導体

イミン誘導体は、N-1,1-ジメチルチオメチレン、N-ベンジリデン、N-*p*-メトキシベンジリデン、N-ジフェニルメチレン、N-[(2-ピリジル)メチル]メチレン、N-(N',N'-ジメチルアミノメチレン)、N,N'-イソプロピリデン、N-*p*-ニトロベンジリデン、N-サリシリデン、N-5-クロロサリシリデン、N-(5-クロロ-2-ヒドロキシフェニル)フェニルメチレン、およびN-シクロヘキシリデンを包含する。

エナミン誘導体

エナミン誘導体の例は、N-(5,5-ジメチル-3-オキソ-1-シクロヘキセニル)である。

【0062】N-ヘテロ原子誘導体

N-金属誘導体は、N-ボラン誘導体、N-ジフェニルボリン酸誘導体、N-{フェニル(ペンタカルボニルクロミウム-または-タングステン)}カルベニル、およびN-銅またはN-亜鉛キレートを含む。N,N-

誘導体の例は、N-ニトロ、N-ニトロンおよびN-オキシドを包含する。N-P誘導体の例は、N-ジフェニルホスフィニル、N-ジメチルチオホスフィニル、N-ジフェニルチオホスフィニル、N-ジアルキルホスホリル、N-ジベンジルホスホリル、およびN-ジフェニルホスホリルを包含する。N-スルフェニル誘導体の例は、N-ベンゼンスルフェニル、N-o-ニトロベンゼンスルフェニル、N-2,4-ジニトロベンゼンスルフェニル、N-ベンタクロロベンゼンスルフェニル、N-2-ニトロ-4-メトキシベンゼンスルフェニル、N-トリフェニルメチルスルフェニル、およびN-3-ニトロピリジンスルフェニルを包含する。N-スルホニル誘導体は、N-p-トルエンスルホニル、N-ベンゼンスルホニル、N-2,3,6-トリメチル-4-メトキシベンゼンスルホニル、N-2,4,6-トリメトキシベンゼンスルホニル、N-2,6-ジメチル-4-メトキシベンゼンスルホニル、N-ペンタメチルベンゼンスルホニル、N-2,3,5,6-テトラメチル-4-メトキシベンゼンスルホニル、N-4-メトキシベンゼンスルホニル、N-2,4,6-トリメチルベンゼンスルホニル、N-2,6-ジメトキシ-4-メチルベンゼンスルホニル、N-2,2,5,7,8-ペンタメチルクロマン-6-スルホニル、N-メタンスルホニル、N-β-トリメチル-シリルエタンスルホニル、N-9-アントラセンスルホニル、N-4-(4',8'-ジメトキシナフチルメチル)-ベンゼンスルホニル、N-ベンジルスルホニル、N-トリフルオロメチルスルホニル、およびN-フェナシルスルホニルを包含する。

【0063】マスクされているまたは保護されている開示した化合物は、インビボで代謝またはさもなくば交換されて、例えば代謝中に短期的に開示した化合物を生ずるブロッカドであることができる。この変換は、血液のような体液または酸の作用または肝臓、胃腸または他の酵素との接触から生ずる加水分解または酸化であることができる。本発明の特徴を、さらに以下の実施例によって説明する。

【0064】E. 実施例

実施例1

〔4-クロロ-2-〔4,4-ジメチル-4,5-ジヒドロ-オキサゾール-2-イル〕-フェニル〕-〔4-ヨード-2-メチルフェニル〕-アミン (1.8) (スキーム2, R₁=Cl, R₂=R₃=H, R₄=CH₃)
a) 5-クロロ-2-メトキシ安息香酸 1.6 (14.8g, 0.0793mol) および SOCl₂ (28.31g, 14.97ml, 0.1584mol) の混合物を2時間環流し、そして過剰の SOCl₂ を除去して白色の残留物を得た。固体を、CH₂Cl₂ に溶解し、そして水浴で冷却した CH₂Cl₂ 中の 2-アミノ-2-メチル-1-プロパノール (13.98g, 14.97ml, 0.1584mol) の溶液に加えた。水浴を除去し、そして室温で3時間攪拌した後に、白色の固体が沈殿した。

沈殿物を、漏過により分離し捨てた。漏液を濃縮して密な無色の油を得た。SOCl₂ (17.4ml) をこの油に滴加した。発熱反応が起こり、自由に流動する溶液を得た。30分攪拌した後に、反応混合物を Et₂O (200ml) に添加した。油が析出した。Et₂O層を傾瀉により分離し捨てた。油状残留物を、最少量の水に溶解し、水性20% NaOHで塩基性となし、そして Et₂Oで抽出した。Et₂O層を、乾燥 (K₂CO₃) し、そして濃縮して黄褐色の油として17を得た。収量14.63g (77%)。

b) LDA (THF中の2.0M溶液の5ml) を、-78℃のTHF (15ml) 中の4-ヨード-2-メチルアニリン (2.33g, 0.010mol) の溶液に加えた。混合物を、-78℃で30分攪拌した。これに、THF (15ml) 中の17 (1.199g, 0.005mol) の溶液を加えた。混合物を16時間攪拌して、それを室温まで加温した。反応混合物を水性NH₄Clでクエンチし Et₂Oで抽出した。Et₂O層を、乾燥 (MgSO₄) 濃縮して、褐色の油として粗製の18を得た。この油を、シリカゲルクロマトグラフィー上で精製した。CH₂Cl₂ で溶離して、褐色の油として純粋な18の1.7g (77%) を得た。油40.9mgを Et₂Oに溶解し Et₂O-HClで処理して、薄い黄色の固体沈殿としてHCl塩を得た。収量35.64mg (81%)。融点32.4~33.0℃。

分析値: C₁₈H₁₈N₂OCl₂·HCl 0.5H₂Oに対する計算/実測値: C 44.47/44.32; H 4.15/3.94; N 5.76/5.66

【0065】実施例2

MAPキナーゼ経路の阻害剤に対するカスケードアッセイ

ミエリン塩基性蛋白質 (MBP) への³²Pの取り込みを、p44MAPキナーゼを含有するグルタチオンS-トランスフェラーゼ融合蛋白質 (GST-MAPK) およびp45MEKを含有するグルタチオンS-トランスフェラーゼ融合蛋白質 (GST-MEK) の存在下においてアッセイする。アッセイ溶液は、100μlの最終容量中に20mMのHEPES (pH7.4)、10mMのMgCl₂、1mMのMnCl₂、1mMのEGTA、50μMの〔γ-³²P〕ATP、10μMのGST-MEK、0.5μMのGST-MAPKおよび40μMのMBPを含有する。反応は、20分後に、トリクロロ酢酸の添加によって停止し、そしてGF/Cフィルターマットを通して濾過する。フィルターマット上に保持された³²Pを、120S Betaplateを使用して測定する。化合物は、10μMにおいて、³²Pの取り込みを阻害する能力について評価する。化合物がGST-MEKまたはGST-MAPKを阻害するかどうかを確かめるために、2つの追加のプロトコルを使用する。第一のプロトコルにおいては、化合物を、GST-MEKを含有する管に加え、次

いてGST-MAPK、MBPおよび $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ を加える。第二のプロトコールにおいては、化合物を、GST-MEKおよびGST-MAPKの両方を含む管に加え、次いでMBPおよび $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ を加える。両方のプロトコールにおいて活性を示す化合物は、MAPK阻害剤としてスコアーし、一方において、第一のプロトコールのみに活性を示す化合物は、MEK阻害剤としてスコアーする。

【0066】実施例3

インビトロMAPキナーゼアッセイ

阻害活性は、直接的なアッセイにおいて確認することができる。MAPキナーゼにおいては、5.0mMのトリス(pH7.5)、1.0μMのMgCl₂、2μMのEGTAおよび1.0μMの $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ を含有する50μlの最終容量中において、GST-MAPK 1μgを、MBP 4.0μgと一緒に、30℃で15分インキュベートする。反応をLaemmli SDSサンプル緩衝液の添加によって停止し、そして磷酸化されたMBPを、10%ポリアクリルアミドゲル上の電気泳動によって分割する。MBP中に取り込まれた放射能を、オートラジオグラフィーおよび取り出したバンドのシンチレーション計数の両方によって測定する。

【0067】実施例4

インビトロMEKアッセイ

直接的なMEK活性の評価においては、GST-MEK、1.0μgを、71位におけるアラニンへのリシンの突然変異を有するp44MAPキナーゼを含有するグルタチオンS-トランスフェラーゼ融合蛋白質(GST-MAPK-KA) 5μgと一緒にインキュベートする。この突然変異は、MAPKのキナーゼ活性を除去し、添加したMEKに帰するキナーゼ活性のみが残る。5.0mMのトリス(pH7.5)、1.0μMのMgCl₂、2μMのEGTAおよび1.0μMの $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ を含有する50μlの最終容量中において、30℃で15分インキュベートする。反応は、Laemmli SDSサンプル緩衝液の添加によって停止する。磷酸化されたGST-MAPK-KAを、10%ポリアクリルアミドゲル上の電気泳動によって分割する。GST-MAPK-KAに取り込まれた放射能を、オートラジオグラフィーおよび取り出したバンドの次のシンチレーション計数によって測定した。さらに、218および222位におけるグルタメートへのセリンの突然変異を含有する人工的に活性化されたMEK(GST-MEK-2E)を使用する。これらの2個の部位が磷酸化されたときに、MEK活性が増加される。これらの部位の磷酸化は、グルタメートへのセリン残基の突然変異によって擬態される。このアッセイにおいては、GST-MEK-2E 5μgを、上述した反応緩衝液中において、GST-MAPK-KA 5μgと一緒に、30℃で15分インキュベートする。反応は、上述したように終結させそして分析する。

【0068】実施例5

全細胞MAPキナーゼアッセイ

化合物が全細胞におけるMAPキナーゼの活性化を遮断するかどうかを測定するために、次のプロトコールを使用する。細胞をマルチウェルプレート中で平面培養し、密集増殖させる。細胞を、一夜血清奪取(serum-deprived)する。細胞を、所望の濃度の化合物またはビヒクル(DMSO)に30分さらし次いで増殖因子、例えばPDGF(100ng/ml)を加える。増殖因子による50分の処理後に、細胞をPBSで洗浄し、7.0mMのNaCl、1.0mMのHEPES(pH7.4)、5.0mMのグリセロールホスフェートおよび1%のトライトンX-100からなる緩衝液中で溶解する。溶解液を、10分間の13,000×gにおける遠心分離によって清澄化する。得られた上澄液5ミクログラムを、5.0mMのトリス(pH7.4)、1.0mMのMgCl₂、2mMのEGTAおよび3.0μMの $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ を含有する25μlの最終容量中において、微小管結合蛋白質-2(Map2) 1.0μgと一緒に30℃で15分インキュベートする。反応は、Laemmliサンプル緩衝液の添加によって終結する。磷酸化されたMap2を、7.5%アクリルアミドゲル上で分割しそして取り込まれた放射能を取り出されたバンドのシンチレーション計数によって測定する。

【0069】実施例6

³H-チミジン取り込み

細胞を、マルチウェルプレート中で平面培養し密集近くまで増殖させる。それから、培地を除去しそして1%の牛血清アルブミンを含有する増殖培地で置換する。24時間の血清飢餓後に、試験化合物および特異性増殖因子を加えインキュベーションをさらに24時間つづける。最後の2時間の間に、³H-チミジンを培地に加える。インキュベーションを終結するために、培地を除去し、そして細胞層を氷冷磷酸塩緩衝生理食塩水溶液で2回洗浄する。最後の洗浄後に、氷冷5%トリクロロ酢酸を加え細胞を室温で15分インキュベートする。それから、トリクロロ酢酸溶液を除去し細胞層を蒸留水で3回洗浄する。最後の洗浄後に、細胞層を2%のトデシル硫酸ナトリウムの添加によって可溶化する。この溶液の放射能を、シンチレーション計数によって測定する。これは、阻害剤がインスリンの有糸分裂誘発および代謝作用の間で選択的であることを証明する。一般に、選択的阻害剤は、非選択的阻害剤よりも低い毒性を示す。

【0070】実施例7

単層増殖

細胞を、1.0~2.0×10⁴細胞/mlにおいて、マルチウェルプレート中に入れた。接種の48時間後に、試験化合物を細胞増殖培地に加えインキュベーションをさらに2日間つづけた。それから、細胞をトリプシンとのインキュベーションによってウェルから除去しコールターカウンターにより計数する。

【0071】実施例8

軟質寒天中における増殖

0.3%の寒天を含有する増殖培地を使用して、細胞を、5~10,000細胞/皿において35mmの皿に接種する。冷却して寒天を固化した後、細胞を37℃のインキュベーターに移す。7~10日の増殖後に、可視コロニーを、解剖顕微鏡を用いて手動で計数する。

【0072】実施例9

マウスにおけるコラーゲン誘発関節炎

マウスにおけるII型コラーゲン誘発関節炎(CIA)

は、慢性関節リウマチと共通の多くの病理学的、免疫学的および遺伝学的特徴を有している関節炎の実験モデルである。この疾患は、フロイント完全アジュバントにおいて皮内的に排出される関節軟骨の主な成分であるII型コラーゲン100μgによるOBA/1マウスの免疫化によって誘発される。この疾患の感受性は、クラスII MHC遺伝子座によって調節され、これは、HLA-D R4と慢性関節リウマチとの関係に類似している。100%までの足幅増加によって特徴づけられる進行性および炎症性の関節炎は、免疫化された大多数のマウスにおいて出現する。試験化合物は、1日につき体重1kg当たり2.0、6.0、10.0および20.0mgのような範囲の量でマウスに投与する。試験の期間は、4.0、6.0または8.0日のような数週間~数ヶ月の範囲にすることができる。紅斑および浮腫(段階1)から関節の歪曲(段階2)、関節の強直(段階3)への疾患の進行を評価するために、臨床的スコアリング指数を使用する。疾患は、動物の1本またはすべての足に影響を及ぼし、結果としてそれぞれのマウスに対して12の可能な全スコアリングを与えるように変化することができる。関節炎性の関節の組織病理学は、滑膜炎、パンス形成および軟骨および骨の侵食を示す。CIAに感受性であるすべてのマウス種は、II型コラーゲンに対する高い抗体応答動物でありCIAに対する著しい細胞応答がある。

【0073】実施例10

SCW誘発単関節の関節炎

関節炎は、僅かな変化を行ってSchwab等〔Infection and immunity 59: 4436-4442 (1991)〕に記載のように誘発される。0日目に、右の脛距骨(tibiotalar)関節に関節内的に注射することによって、超音波処理したSCW 6μg〔Dulbecco's PBS (DPBS) 1.0μl中の〕をラットに与える。21日目に、静脈内的に投与されたSCW 100μg(250μl)によって、DTHを開始する。経口的な化合物の研究においては、化合物をビヒクル(0.5%のヒドロキシプロピルメチルセルロース/0.2%のTween 80)に懸濁し、超音波処理し、SCWによる再活性化の1時間前に始めて、1日当たり2回投与(10ml/kg容量)する。化合物は、2.0、3.0、6 *

*0、100、200および300mg/kg/日のような10~500mg/kg/日の間の量で投与される。浮腫測定は、21日目の再活性化前の感作した後足の基準容量を測定し、これらを22、23、24および25日目におけるようなその後の時間点における容量と比較することによって得られる。足の容量は、水銀体積変動記録法によって測定される。

【0074】実施例11

マウス耳-心臓移植モデル

10 Fey T.A.等〔J. Pharm. and Toxic. Meth. 39: 9-17 (1998)〕は、マウスおよびラットの耳の耳介に、分断された新生児の心臓の移植片を移植する方法を記載している。化合物は、無水のエタノール、水中の0.2%のヒドロキシプロピルメチルセルロース、プロピレングリコール、クレモフォールおよびデキストロース、または他の溶剤または懸濁ビヒクルの組み合わせを含有する溶液に溶解する。マウスには、移植の日(0日目)から13日目までまたは移植片が拒絶されるまで、1日当たり1、2または3回経口的にまたは腹腔内的に投与する。ラットには、0日目から13日目まで1日当たり1、2または3回投与する。それぞれの動物を麻酔し、切開を受容動物の耳の根元において行って背側の表皮および真皮のみを切る。この切開を頭に平行に軟骨の方へ広げそしてラットに対する穴あけ器具またはマウスに対する挿入器具を収容するために十分に広げる。生後60時間未満の新生児のマウスまたはラットの子供を麻酔し、頸部脱臼する。心臓を胸部から除去し、生理食塩水ですすぎ、小刀で縦方向に2分し、そして滅菌した生理食塩水ですすぐ。供与動物の心臓のフラグメントを、挿入器具により予め形成したトンネルに入れ、そして空気または残留液体を、軽い加圧によりトンネルから圧出する。縫い合わせ、接着結合、包帯または抗生物質による処理は不要である。麻酔することなく、移植片を立体顕微鏡によって10~20倍の倍率で検査する。移植片が目に見えて搏動していない受容動物は麻酔しそして耳介または直接移植片におかれたGrass E2白金皮下ピン微小電極およびタコグラフを使用して電気活性の存在について評価することができる。移植片は、10日、20日、30日またはそれ以上の日数の間1日当たり1~4回検査することができる。移植拒絶の症状を軽減する試験化合物の能力は、シクロスポリン、タクロリムスまたは経口的に投与されるレフルオノミドのような比較対照化合物と比較することができる。

【0075】実施例12

ヒトのPBMC蛋白質抽出液中の磷酸化ERK1/ERK2のウェスタンブロット分析

溶解緩衝液およびプロテアーゼ阻害剤の調製液

これらの成分を加え4℃で貯蔵する。

原料	量	最終濃度
NaCl	2.454g	70mM

β -グリセロールホスフェート	5.4 g	50 mM
1M HEPES	5 ml	10 mM
トライトンX-100	5 ml	1%
ddH ₂ O	50.0 mlにするのに十分な量	

次の原溶液を製造しそして溶解緩衝液に加える前に推薦された条件下で貯蔵する。次の溶液は、溶解工程の直前に溶解緩衝液に加えなければならない。この溶液は、時*

*間より30分以上早く製造してはならず使用するまで4℃で貯蔵しなければならない。
【0076】

原料	量	最終濃度	貯蔵
1. Na ₂ VO ₄	3.678 g	100 mM	4℃
ddH ₂ O	200 ml		
2. PMSF	17.4 mg	100 mM	-20℃
EtOH	1 ml		
3 週毎に新しい原溶液を調製し光から保護して貯蔵する。			
3. ロイペプチン	5 mg	1 mg/ml	-20℃
ddH ₂ O	5 ml		

3種の成分を、2.5 mlの溶解緩衝液に加える。

※ ※ 【0077】

最終濃度	原溶液	量
1 mM Na ₂ VO ₄	100 mM	250 μ l
1 μ M PMSF	100 mM	ddH ₂ O中で1:100、 次いで、25 μ lを溶解緩衝 液に加える。
1 mMロイペプチン	1 mg/ml	11.9 μ l

【0078】非粘着細胞を1.5 mlのコニカル管(氷上の)に集め、4℃で5分間800 rpmで遠心分離して細胞をペレット化する。溶解緩衝液250 μ lをそれぞれのウェルに加える(それぞれのウェルには、 1.0×10^6 の細胞を供給した)。反復してピペットで上下させてプレート上の細胞を溶解する。一旦非粘着細胞がペレット化されたら、上澄液を吸引分離しペレットを相当するウェルからの溶解緩衝液で再懸濁する。非粘着細胞ペレットを移し変える前に緩衝液を反復してピペットにより導入し細胞が溶解され完全に組織培養皿から除去されることを確実にする。管の中のピペットの容積のすべての細胞を溶解する。試料を4℃で15分2500 \times gで遠心分離する。上澄液を、キャップを有する微小遠心分離管に集め-80℃でさらに使用されるまで貯蔵する。

【0079】ゲル電気泳動

10.0 mlの10Xトリス/グリシン/SDS緩衝液(Novex LC 2675)をddH₂Oで1Lにうすめる。Novexからの1.0または1.5 mmの10%トリスグリシンブレイキャストゲルを使用する。使用されたゲルの厚さ(1.0または1.5 mm)は、1ウェル当たり負荷される試料の容量に依存する。次の表は、利用できるゲルの収容能力を示す。

ウェルの数	ゲルの厚さ	最大のウェル容量
10	1.0 mm	25 μ l
15	1.0 mm	15 μ l
10	1.5 mm	37 μ l
15	1.5 mm	25 μ l

【0080】ゲルボーチを開きそしてゲルカセットを取

り出す。テープを底部から離脱しそしてくし(comb)を注意深く引き出す。ウェルを1Xトリス/グリシン/SDSランニング緩衝液ですすぐ。カセットのウェル側が緩衝液コアに面するように、ゲルをMini-Cell中で配向する。このコアをランニング緩衝液で満たし、漏れをチェックする。ゲルを100 Vにおいて15分予備通電(pre-run)する。適当な容量の蛋白質およびNovexトリス-グリシンSDS試料緩衝液(LC 2676)を加えることによって試料を製造する。1レーン当たり試料の少なくとも10 μ lを負荷することが最も理想的である。必要な容量を計算するために、3つのレーンに1レーン当たり5 μ gを負荷するのに必要な蛋白質の量を測定する。一旦これが測定されたら、適当な容量の蛋白質試料をエペンドルフ管(eppendorf tube)にアリコートし、そして等容量の2Xトリス-グリシンSDS緩衝液を加える。全体の容量を、1レーン当たり負荷される試料の容量を測定するために、3で割る。試料を95℃で5分加熱する。10 μ lの分子量マーカー(Benchmark Prestained Protein Ladder; Gibco BRL 10748-010)を、標準レーンに負荷する。ゲルを125 V(一定の電圧)またはそれ未満において約90分または青色の染色前面がゲルの底部に達するまで通電する。

【0081】転移(transfer)

40 mlの25Xトリス-グリシン転移緩衝液(Novex LC 3675)を、ddH₂Oで1Lにうすめる。ゲルをカセットから除去し穏やかに振盪しながら、1X転移緩衝液中で10分すすぐ。ニトロセルロースおよび濾紙(Novex LC 2001)を、1X転移緩衝液中で10分予備湿潤する。ブ

ロッキングパッド (Novex EI 9052) を、1X転移緩衝液中で飽和するまで浸漬する。緩衝液中で絞ることによって、空気ポケットおよび気泡を除去する。プロットモジュールを組み立てる。コアを1X転移緩衝液で満たし、漏れをチェックする。外部の室を転移緩衝液で満たす。25.0 mA max (一定の電流) において1時間15分転移する。

【0082】実施例13

ネズミのオボアルブミン誘発好酸球増加

雌のC57BL/6マウスを、Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME) から得た。すべての動物に、食物および水を自由に与えた。マウスを0日目に、みょうばんに吸着させたOVA (グレードV, Sigma Chemical Company, St. Louis, MO) (生理食塩水200 μ l中のOVA 1.0 μ g+みょうばん9mg) またはビヒクル比較対照 (生理食塩水200 μ l中のみょうばん9mg) 1回の腹腔内注射によって感作する。14日目に、マウスを、噴霧器 (小粒子発生機、モデルSPAG-2; ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, CA) により製造された生理食塩水中の1.5 (重量/容量) %のOVAからなるエアゾルの12分の吸入によって挑戦する。8匹のマウスの群に経口ビヒクル (0.5%のヒドロキシプロピルメチルセルロース/0.25%のTween 80) または経口ビヒクル中の10、30または100 mg/kgの試験化合物 (1匹のマウス当たり200 μ l、経口的) を投与する。投与は、7日目または13日に始めて16日目まで延長して1日当たり1回投与する。肺の好酸球増加を測定するために、*

*はじめのOVAエアゾル挑戦(17日目)の3日後に、マウスを麻酔薬 (ケタミン/アセプロマジン/キシラジン) の腹腔内注射によって麻酔し、気管を露出しカニュレを挿入する。肺および上部気道を冷PBS 0.5 mlで2回洗浄する。気管支肺胞洗浄(BAL)液体の一部 (200 μ l) を、コールターカウンターモデルZB1 (Coulter Electronics, Hialeah, FL) を使用して計数する。それから、残留するBAL液体を、300 \times gで5分遠心分離し、細胞を0.5%のウシ胎仔血清 (HyClone) および10 mM HEPES (Gibco BRL) を含有するHBSS (Gibco BRL) 1 ml中で再懸濁する。この細胞懸濁液を、サイトスピン (Shandon Southern Instruments, Sewickley, PA) 中で遠心分離し、Diff Quick (American Scientific Products, McGraw Park, IL) によって染色してBAL白血球を好中球、好酸球、単球またはリンパ球サブセットに分ける。BAL液体中の好酸球の数は、好酸球の%に全細胞数を乗ずることによって測定される。

【0083】F. 他の態様

上記の開示および実施例および特許請求の範囲から、本発明の特徴は容易に理解される。また、本発明の範囲は、当業者の知識内の種々の変形を包含する。実施例は、保護基の添加または除去によって変形された化合物、または開示した化合物のエステル、医薬的塩、水和物、酸、またはアミドを包含する。引用された文献は、全体において参照によって本明細書中に加入する。

フロントページの続き

(51) Int. Cl.	識別記号	F I	テコード (参考)
A 6 1 K 31/41		A 6 1 K 31/41	
31/433			6 0 4
31/4164		31/415	6 0 6
31/421		31/42	6 0 1
C 0 7 D 249/06	5 0 1	C 0 7 D 249/06	5 0 1
249/12	5 0 1	249/12	5 0 1
257/04		257/04	E
263/10		263/10	
285/13		291/04	
285/135		285/12	C
285/125			E
291/04			D

(72) 発明者 アレグザンダー・ジェイムズ・ブリッジス
アメリカ合衆国ミシガン州48176 セイライ
ン、テクスタイルロード3301

(72) 発明者 ヘイル・テクル
アメリカ合衆国ミシガン州48108 アン
バー、ターンベリ3048

Fターム(参考) 4C036 AD08 AD17 AD19 AD27 AD30
4C056 AA01 AB01 AB02 AC02 AC07
AD01 AE02 AE03 AF01 BA03
BA11 BB01 BB04 BC01
4C086 AA01 AA02 AA03 BC36 BC60
BC69 BC71 BC85 MA01 MA02
MA03 MA04 MA05 NA14 ZA16
ZA33 ZA36 ZA45 ZA66 ZA75
ZA81 ZA89 ZA96 ZB07 ZB08
ZB11 ZB15 ZB26 ZB27 ZB33
ZB35 ZC20 ZC35 ZC41 ZC55
ZC75

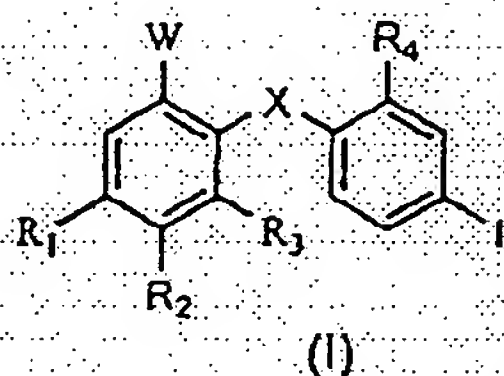
【外国語明細書】

1. Title of Invention

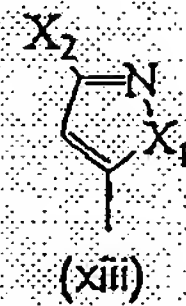
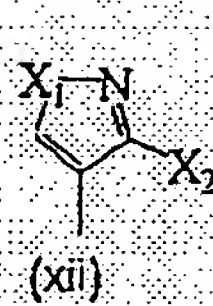
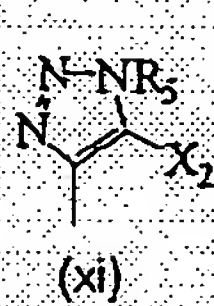
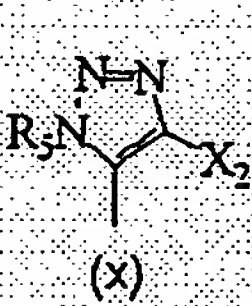
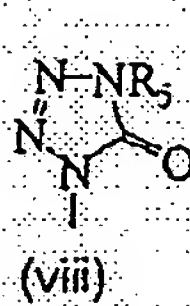
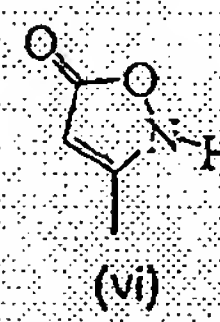
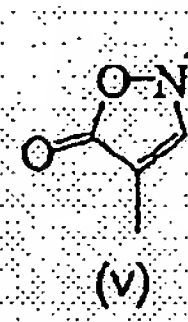
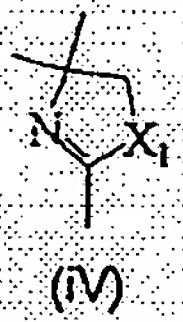
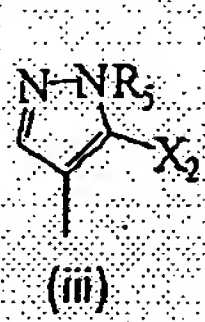
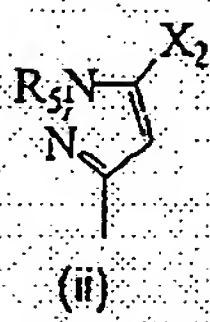
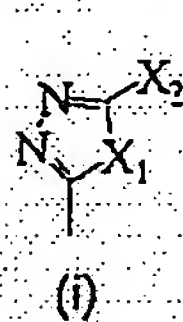
DIARYL AMINES

2. Claims

1. A compound of formula (I).



W is one of the following formulae (i) – (xiii):

 X_1 is O, S, or NR_E ; X_2 is OH, SH, or NHR_E ;each of R_E and R_F is H or C_{1-4} alkyl;

each of R_1 and R_2 is independently selected from H, F, NO_2 , Br and Cl;

R_3 is H or F;

R_4 is H, Cl or CH_3 ;

R_5 is H or C_{3-4} alkyl; and

wherein each hydrocarbon radical above is optionally substituted with between 1 and 3 substituents independently selected from halo, hydroxyl, amino, (amino)sulfonyl, and NO_2 ; and

wherein each heterocyclic radical above is optionally substituted with between 1 and 3 substituents independently selected from halo, C_{3-4} alkyl, C_{3-6} cycloalkyl, C_{3-4} alkenyl, C_{3-4} alkynyl, phenyl, hydroxyl, amino, (amino)sulfonyl, and NO_2 , wherein each substituent alkyl, cycloalkyl, alkenyl, alkynyl or phenyl is in turn optionally substituted with between 1 and 2 substituents independently selected from halo, C_{1-2} alkyl, hydroxyl, amino, and NO_2 ;

or a pharmaceutically acceptable salt or C_{1-8} ester thereof.

2. A compound of claim 1, wherein R_1 is bromo or chloro.
3. A compound of claim 1, wherein R_2 is fluoro.
4. A compound of claim 1, wherein R_3 is H.
5. A compound of claim 4, wherein each of R_2 and R_3 is H.
6. A compound of claim 1, wherein each of R_2 and R_3 is fluoro.
7. A compound of claim 6, wherein R_1 is bromo.

8. A compound of claim 6, wherein R_1 is fluoro.
9. A compound of claim 1, wherein R_2 is nitro.
10. A compound of claim 8, wherein R_3 is H.
11. A compound of claim 1, wherein R_4 is chloro.
12. A compound of claim 1, wherein R_4 is methyl.
13. A compound of claim 1, wherein R_5 is H.
14. A compound of claim 1, wherein R_5 is CH_3 .
15. A compound of claim 1, wherein X_1 is O or S.
16. A compound of claim 1, wherein X_1 is NH or NCH_3 .
17. A compound of claim 1, wherein X_2 is OH, SH, or NH_2 .
18. A compound of claim 1, wherein X_2 is $NHCH_3$ or OH.
19. A pharmaceutical composition comprising a compound of claim 1 and a pharmaceutically-acceptable carrier.
20. A compound of claim 1, having a structure: [5-fluoro-2-(1H-tetrazol-5-yl)-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; [2,3-difluoro-6-(1H-tetrazol-5-yl)-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; (4-iodo-2-methyl-phenyl)-[2,3,4-trifluoro-6-(1H-tetrazol-5-yl)-phenyl]-amine; [4-bromo-2,3-difluoro-6-(1H-tetrazol-5-yl)-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; [5-fluoro-4-nitro-2-(1H-tetrazol-5-yl)-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; [2-(4,4-dimethyl-4,5-dihydro-oxazol-2-yl)-5-fluoro-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; [6-(4,4-dimethyl-4,5-

dihydro-oxazol-2-yl)-2,3-difluoro-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; [6-(4,4-dimethyl-4,5-dihydro-oxazol-2-yl)-2,3,4-trifluoro-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; [4-bromo-6-(4,4-dimethyl-4,5-dihydro-oxazol-2-yl)-2,3-difluoro-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; [2-(4,4-dimethyl-4,5-dihydro-oxazol-2-yl)-5-fluoro-4-nitro-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazol-2-ol; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazol-2-ol; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazol-2-ol; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazol-2-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-[1,3,4]thiadiazol-2-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazol-2-ol; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazol-2-ol; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazol-2-ol; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazol-2-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-[1,3,4]oxadiazol-2-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazol-3-ol; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazol-3-ol; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazol-3-ol; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazol-3-ol; or 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-4H-[1,2,4]triazol-3-ol.

21. A compound of claim 1, having a structure:

5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazol-2-ylamine;
 5-[3,4-Difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazol-2-ylamine; 5-[3,4,5-Trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazol-2-ylamine; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazol-2-ylamine; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-[1,3,4]thiadiazol-2-ylamine; 5-[4-Fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazol-2-ylamine; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazol-2-ylamine; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazol-2-ylamine; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazol-2-ylamine;

5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-[1,3,4]oxadiazol-2-ylamine; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazol-3-ylamine; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazol-3-ylamine; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazol-3-ylamine; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazol-3-ylamine; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-4H-[1,2,4]triazol-3-ylamine; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazole-2-thiol; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazole-2-thiol; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazole-2-thiol; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazole-2-thiol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-[1,3,4]thiadiazole-2-thiol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazole-2-thiol; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazole-2-thiol; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazole-2-thiol; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazole-2-thiol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-[1,3,4]oxadiazole-2-thiol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazole-3-thiol; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazole-3-thiol; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazole-3-thiol; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazole-3-thiol; or 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-4H-[1,2,4]triazole-3-thiol.

22. A compound of claim 1, having a structure: 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isothiazol-3-ol; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isothiazol-3-ol; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isothiazol-3-ol; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isothiazol-3-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-isothiazol-3-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isoxazol-3-ol; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isoxazol-3-ol; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-

phenylamino)-phenyl]-isoxazol-3-ol; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isoxazol-3-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-isoxazol-3-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1H-pyrazol-3-ol; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1H-pyrazol-3-ol; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1H-pyrazol-3-ol; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1H-pyrazol-3-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-1H-pyrazol-3-ol; 4-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isothiazol-3-ol; 4-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isothiazol-3-ol; 4-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isothiazol-3-ol; 4-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isothiazol-3-ol; 4-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-isothiazol-3-ol; 4-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isoxazol-3-ol; 4-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isoxazol-3-ol; 4-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isoxazol-3-ol; 4-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isoxazol-3-ol; 4-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-isoxazol-3-ol; 4-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1-methyl-1H-pyrazol-3-ol; 4-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1-methyl-1H-pyrazol-3-ol; 1-methyl-4-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1H-pyrazol-3-ol; 4-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1-methyl-1H-pyrazol-3-ol; or 4-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-1-methyl-1H-pyrazol-3-ol.

23. A compound of claim 1, having a structure: 5-[2-(2-amino-4-iodo-phenylamino)-4-fluoro-phenyl]-1-methyl-1H-[1,2,3]triazol-4-ol; 5-[2-(2-amino-4-iodo-phenylamino)-3,4-difluoro-phenyl]-1-methyl-1H-[1,2,3]triazol-4-ol; 5-[2-(2-amino-4-iodo-phenylamino)-3,4,5-trifluoro-phenyl]-1-methyl-1H-[1,2,3]triazol-4-ol; 5-[2-(2-amino-4-iodo-phenylamino)-5-bromo-3,4-difluoro-phenyl]-1-methyl-1H-[1,2,3]triazol-4-ol; 5-[2-(2-amino-4-iodo-phenylamino)-4-fluoro-5-nitro-phenyl]-1-methyl-1H-[1,2,3]triazol-4-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-3-methyl-3H-[1,2,3]triazol-4-ol; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-3-methyl-3H-[1,2,3]triazol-4-ol; 3-methyl-5-[3,4,5-trifluoro-2-

(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-3H-[1,2,3]triazol-4-ol; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-3-methyl-3H-[1,2,3]triazol-4-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-3-methyl-3H-[1,2,3]triazol-4-ol; 4-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-2-methyl-2H-pyrazol-3-ol; 4-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-2-methyl-2H-pyrazol-3-ol; 2-methyl-4-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-2H-pyrazol-3-ol; 4-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-2-methyl-2H-pyrazol-3-ol; 4-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-2-methyl-2H-pyrazol-3-ol; 1-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4-methyl-1,4-dihydro-tetrazol-5-one; 1-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4-methyl-1,4-dihydro-tetrazol-5-one; 1-methyl-4-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1,4-dihydro-tetrazol-5-one; 1-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4-methyl-1,4-dihydro-tetrazol-5-one; 1-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-4-methyl-1,4-dihydro-tetrazol-5-one; 1-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1H-[1,2,3]triazol-4-ol; 1-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1H-[1,2,3]triazol-4-ol; 1-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1H-[1,2,3]triazol-4-ol; 1-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1H-[1,2,3]triazol-4-ol; or 1-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-1H-[1,2,3]triazol-4-ol.

24. A compound of claim 1, having a structure: 3-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-2H-isoxazol-5-one; 3-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-2H-isoxazol-5-one; 3-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-2H-isoxazol-5-one; 3-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-2H-isoxazol-5-one; 3-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-2H-isoxazol-5-one; [5-fluoro-2-(2-oxo-2,3-dihydro-2H-1,2,3,5-oxathiadiazol-4-yl)-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; [2,3-difluoro-6-(2-oxo-2,3-dihydro-2H-1,2,3,5-oxathiadiazol-4-yl)-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; (4-iodo-2-methyl-phenyl)-[2,3,4-trifluoro-6-(2-oxo-2,3-dihydro-2H-1,2,3,5-oxathiadiazol-4-yl)-phenyl]-amine
 *?; [4-bromo-2,3-difluoro-6-(2-oxo-2,3-dihydro-2H-1,2,3,5-oxathiadiazol-4-yl)-

phenyl)-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; [5-fluoro-4-nitro-2-(2-oxo-2,3-dihydro-2H-[1,2,3,5]oxathiadiazol-4-yl)-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; 4-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-isoxazol-5-one; 4-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-isoxazol-5-one; 4-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-isoxazol-5-one; 4-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-isoxazol-5-one; or 4-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-4H-isoxazol-5-one.

25. A method for treating a proliferative disease, said method comprising administering to a patient in need of such treatment a pharmaceutically-effective amount of a composition comprising a compound of claim 1.

26. A method of claim 25, wherein said proliferative disease is selected from psoriasis, restenosis, autoimmune disease, and atherosclerosis.

27. A method for treating cancer, said method comprising administering to a patient in need of such treatment a pharmaceutically-effective amount of a composition comprising a compound of claim 1.

28. A method of claim 27, wherein said cancer is MEK-related.

29. A method of claim 27, wherein said cancer is brain, breast, lung, ovarian, pancreatic, prostate, or colorectal cancer.

30. A method for treating, or ameliorating the sequelae of, a stroke, said method comprising administering to a patient in need of such treatment a pharmaceutically-effective amount of a composition comprising a compound of claim 1.

31. A method for treating, or ameliorating the sequelae of, heart failure, said method comprising administering to a patient in need of such treatment a

pharmaceutically-effective amount of a composition comprising a compound of claim 1.

32. A method for treating or reducing the symptoms of xenograft rejection, said method comprising administering to an organ transplant or bone marrow transplant patient a pharmaceutically-effective amount of a composition comprising a compound of claim 1.

33. A method for treating osteoarthritis, said method comprising administering to a patient in need of such treatment a pharmaceutically-effective amount of a composition comprising a compound of claim 1.

34. A method for treating rheumatoid arthritis, said method comprising administering to a patient in need of such treatment a pharmaceutically-effective amount of a composition comprising a compound of claim 1.

35. A method for treating cystic fibrosis, said method comprising administering to a patient in need of such treatment a pharmaceutically-effective amount of a composition comprising a compound of claim 1.

36. A method for treating hepatomegaly, said method comprising administering to a patient in need of such treatment a pharmaceutically-effective amount of a composition comprising a compound of claim 1.

37. A method for treating cardiomegaly, said method comprising administering to a patient in need of such treatment a pharmaceutically-effective amount of a composition comprising a compound of claim 1.

38. A method for treating Alzheimer's disease, said method comprising administering to a patient in need of such treatment a pharmaceutically-effective amount of a composition comprising a compound of claim 1.

39. A method for treating diabetes, said method comprising administering to a patient in need of such treatment a pharmaceutically-effective amount of a composition comprising a compound of claim 1.

40. A method for treating septic shock, said method comprising administering to a patient in need of such treatment a pharmaceutically-effective amount of a composition comprising a compound of claim 1.

41. A method for treating a viral infection, said method comprising administering to a patient in need of such treatment a pharmaceutically-effective amount of a composition comprising a compound of claim 1.

42. A method of claim 41, wherein said infection is an infection of HIV.

43. A method for treating cancer, said method comprising (a) administering to a patient in need of such treatment, a pharmaceutically-effective amount of a composition comprising a compound of claim 1; and (b) administering a therapy selected from radiation therapy and chemotherapy.

44. A method of claim 43, wherein said chemotherapy comprises a mitotic inhibitor.

3. Detailed Description of Invention

This invention relates to diaryl amines such as benzoheteroaryls.

BACKGROUND

MEK enzymes are dual specificity kinases involved in, for example, immunomodulation, inflammation, and proliferative diseases such as cancer and restenosis.

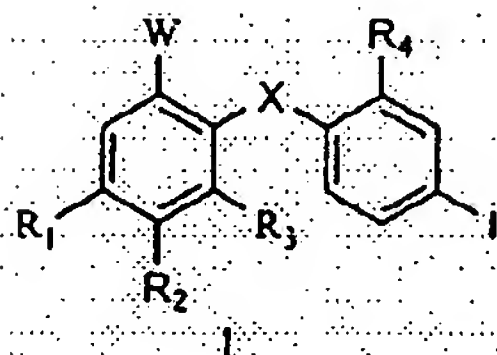
Proliferative diseases are caused by a defect in the intracellular signaling system, or the signal transduction mechanism of certain proteins. Defects include a change either in the intrinsic activity or in the cellular concentration of one or more signaling proteins in the signaling cascade. The cell may produce a growth factor that binds to its own receptors, resulting in an autocrine loop which continually stimulates proliferation. Mutations or overexpression of intracellular signaling proteins can lead to spurious mitogenic signals within the cell. Some of the most common mutations occur in genes encoding the protein known as Ras, a G-protein that is activated when bound to GTP, and inactivated when bound to GDP. The above-mentioned growth factor receptors, and many other mitogenic receptors, when activated, lead to Ras being converted from the GDP-bound state to the GTP-bound state. This signal is an absolute prerequisite for proliferation in most cell types. Defects in this signaling system, especially in the deactivation of the Ras-GTP complex, are common in cancers, and lead to the signaling cascade below Ras being chronically activated.

Activated Ras leads in turn to the activation of a cascade of serine/threonine kinases. One of the groups of kinases known to require an active Ras-GTP for its own activation is the Raf family. These in turn activate MEK (e.g., MEK₁ and MEK₂) which then activates MAP kinase, ERK (ERK₁ and ERK₂). Activation of MAP kinase by mitogens appears to be essential for proliferation; constitutive activation of this kinase is sufficient to induce cellular transformation. Blockade of downstream Ras signaling, for example by use of a

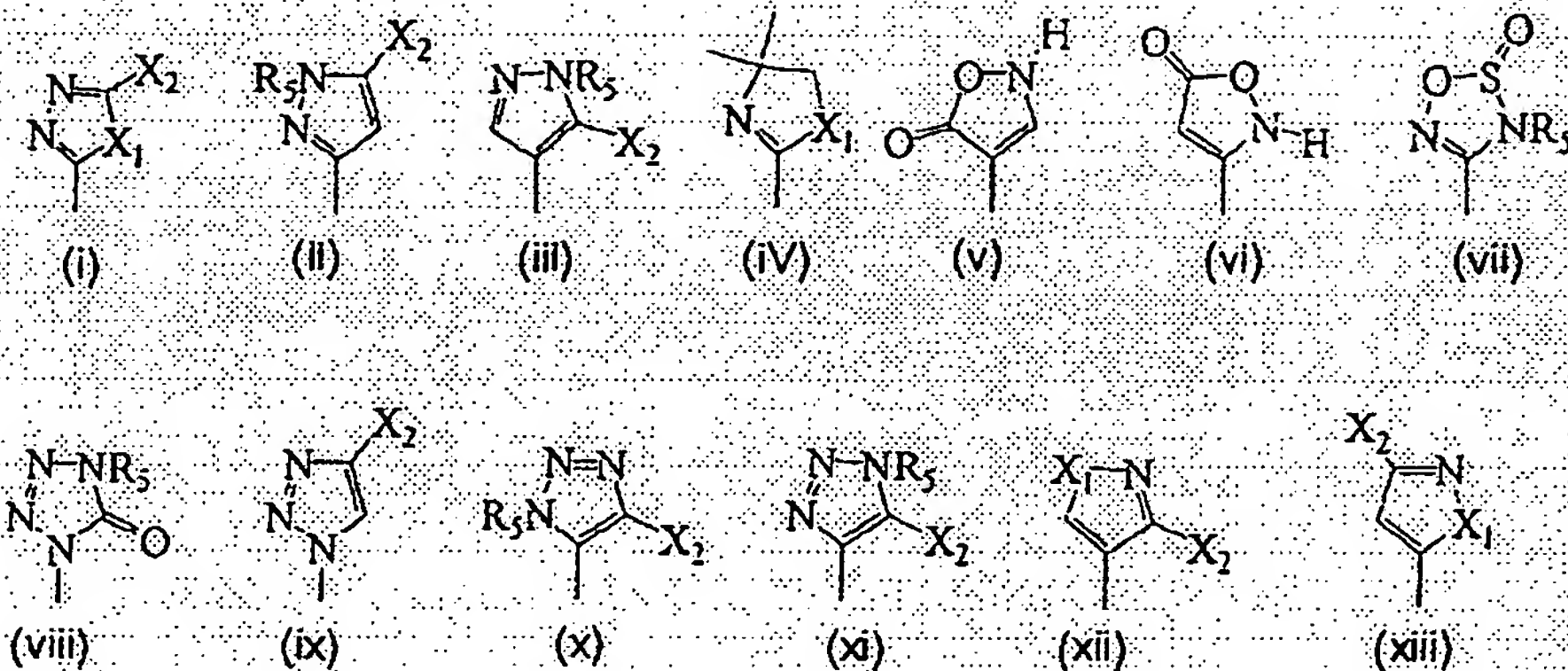
dominant negative Raf-1 protein, can completely inhibit mitogenesis, whether induced from cell surface receptors or from oncogenic Ras mutants. Although Ras is not itself a protein kinase, it participates in the activation of Raf and other kinases, most likely through a phosphorylation mechanism. Once activated, Raf and other kinases phosphorylate MEK on two closely adjacent serine residues, S218 and S222 in the case of MEK-1, which are the prerequisite for activation of MEK as a kinase. MEK in turn phosphorylates MAP kinase on both a tyrosine, Y185, and a threonine residue, T183, separated by a single amino acid. This double phosphorylation activates MAP kinase at least 100-fold. Activated MAP kinase can then catalyze the phosphorylation of a large number of proteins, including several transcription factors and other kinases. Many of these MAP kinase phosphorylations are mitogenically activating for the target protein, such as a kinase, a transcription factor, or another cellular protein. In addition to Raf-1 and MEKK, other kinases activate MEK, and MEK itself appears to be a signal integrating kinase. Current understanding is that MEK is highly specific for the phosphorylation of MAP kinase. In fact, no substrate for MEK other than the MAP kinase, ERK, has been demonstrated to date and MEK does not phosphorylate peptides based on the MAP kinase phosphorylation sequence, or even phosphorylate denatured MAP kinase. MEK also appears to associate strongly with MAP kinase prior to phosphorylating it, suggesting that phosphorylation of MAP kinase by MEK may require a prior strong interaction between the two proteins. Both this requirement and the unusual specificity of MEK are suggestive that it may have enough difference in its mechanism of action to other protein kinases that selective inhibitors of MEK, possibly operating through allosteric mechanisms rather than through the usual blockade of the ATP binding site, may be found.

SUMMARY

The invention features a compound having the formula (I) below:



W is one of the following formulae (i) – (xiii):



X_1 is O, S, or NR_E . X_2 is OH, SH, or NHR_E . Each of R_E and R_F is H or C_{1-4} alkyl; each of R_1 and R_2 is independently selected from H, F, NO_2 , Br and Cl. R_3 is selected from H and F; R_4 is H, Cl or CH_3 . R_5 is H or C_{1-4} alkyl. Each hydrocarbon radical above is optionally substituted with between 1 and 3 substituents independently selected from halo, hydroxyl, amino, (amino)sulfonyl, and NO_2 . Each heterocyclic radical above is optionally substituted with between 1 and 3 substituents independently selected from halo, C_{1-4} alkyl, C_{3-6} cycloalkyl, C_{3-4} alkenyl, C_{3-4} alkynyl, phenyl, hydroxyl, amino, (amino)sulfonyl, and NO_2 , wherein each substituent alkyl, cycloalkyl, alkenyl, alkynyl or phenyl is in turn optionally substituted with between 1 and 2 substituents independently selected from halo, C_{1-2} alkyl, hydroxyl, amino, and NO_2 . The invention also features a

pharmaceutically acceptable salt or C₁₋₈ ester of a disclosed compound. For example, the disclosed alcohol compounds may form esters having the structure obtained by replacing the H of a hydroxyl group with a -C(=O)C₁₋₇ acyl group.

The invention also relates to a pharmaceutical composition including

(a) a compound of formula (I) and (b) a pharmaceutically-acceptable carrier.

The invention further relates to a method for treating proliferative diseases, such as cancer, restenosis, psoriasis, autoimmune disease, and atherosclerosis. Other aspects of the invention include methods for treating MEK-related (including ras-related) cancers, whether solid or hematopoietic. Examples of cancers include colorectal, cervical, breast, ovarian, brain, acute leukemia, gastric, non-small cell lung, pancreatic, and lung. Further aspects of the invention include methods for treating or reducing the symptoms of xenograft (organ or bone marrow transplant) rejection, osteoarthritis, rheumatoid arthritis, cystic fibrosis, diabetes (including diabetic retinopathy), hepatomegaly, cardiomegaly, stroke (such as acute focal ischemic stroke and global cerebral ischemia), heart failure, septic shock, asthma, and Alzheimer's disease. Compounds of the invention are also useful as antiviral agents for treating viral infections such as HIV, hepatitis (B) virus (HBV), human papilloma virus (HPV), reovirus, cytomegalovirus (CMV), and Epstein-Barr virus (EBV). These methods include the step of administering to a patient in need of such treatment, or suffering from such a disease or condition, a pharmaceutically-effective amount of a disclosed compound or pharmaceutical composition thereof.

The invention also features methods of combination therapy, such as a method for treating cancer, wherein the method further includes providing radiation therapy or chemotherapy, for example, with mitotic inhibitors such as a taxane or a vinca alkaloid. The chemotherapy or radiation therapy may be administered before, concurrently, or after the administration of a disclosed compound according to the needs of the patient.

The method also features synthetic methods disclosed herein.

Other aspects of the invention are provided in the description, examples, and claims below.

DETAILED DESCRIPTION

The invention features diaryl amine compounds, pharmaceutical compositions thereof, and methods of using such compounds and compositions.

According to one aspect of the invention, the compounds are MEK inhibitors. MEK inhibition assays include the *in vitro* cascade assay for inhibitors of MAP kinase pathway described at column 6, line 36 to column 7, line 4 of U.S. Patent Number 5,525,625 and the *in vitro* MEK assay at column 7, lines 4-27 of the same patent, the entire disclosure of which is incorporated by reference (see also Examples 2-7 below). A whole cell assay is described below in Example 5.

A. Terms

Certain terms are defined below and by their usage throughout this disclosure.

Alkyl groups include aliphatic (i.e., hydrocarbyl or hydrocarbon radical structures containing hydrogen and carbon atoms) with a free valence. Alkyl groups are understood to include straight chain and branched structures. Examples include methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, n-butyl, isobutyl, t-butyl, pentyl, isopentyl, 2,3-dimethylpropyl, hexyl, 2,3-dimethylhexyl, 1,1-dimethylpentyl, heptyl, and octyl. Cycloalkyl groups include cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, cycloheptyl, and cyclooctyl.

Alkyl groups can be substituted with 1, 2, 3 or more substituents which are independently selected from halo (fluoro, chloro, bromo, or iodo), hydroxy, amino, alkoxy, alkylamino, dialkylamino, cycloalkyl, aryl, aryloxy, arylalkyloxy, heterocyclic radical, and (heterocyclic radical)oxy. Specific examples include fluoromethyl, hydroxyethyl, 2,3-dihydroxyethyl, (2- or 3-furanyl)methyl, cyclopropylmethyl, benzyloxyethyl, (3-pyridinyl)methyl, (2- or 3-furanyl)methyl, (2-thienyl)ethyl, hydroxypropyl, aminocyclohexyl, 2-dimethylaminobutyl, methoxymethyl, *N*-pyridinylethyl, diethylaminoethyl, and cyclobutylmethyl.

Alkenyl groups are analogous to alkyl groups, but have at least one double bond (two adjacent sp^2 carbon atoms). Depending on the placement of a double bond and substituents, if any, the geometry of the double bond may be *entgegen* (E), or *zusammen* (Z), *cis*, or *trans*. Similarly, alkynyl groups have at least one

triple bond (two adjacent sp carbon atoms). Unsaturated alkenyl or alkynyl groups may have one or more double or triple bonds, respectively, or a mixture thereof; like alkyl groups, unsaturated groups may be straight chain or branched, and they may be substituted as described both above for alkyl groups and throughout the disclosure by example. Examples of alkenyls, alkynyls, and substituted forms include cis-2-butenyl, trans-2-butenyl, 3-butenyl, 3-phenyl-2-propynyl, 3-(2'-fluorophenyl)-2-propynyl, 3-methyl(5-phenyl)-4-pentynyl, 2-hydroxy-2-propynyl, 2-methyl-2-propynyl, 2-propenyl, 4-hydroxy-3-butenyl, 3-(3-fluorophenyl)-2-propynyl, and 2-methyl-2-propenyl. In formula (I), alkenyls and alkynyls can be C₂₋₄ or C₂₋₈, for example, and are preferably C₃₋₄ or C₃₋₈.

More general forms of substituted hydrocarbon radicals include hydroxyalkyl, hydroxyalkenyl, hydroxyalkynyl, hydroxycycloalkyl, hydroxyaryl, and corresponding forms for the prefixes amino-, halo- (e.g., fluoro-, chloro-, or bromo-), nitro-, alkyl-, phenyl-, cycloalkyl- and so on, or combinations of substituents. According to formula (I), therefore, substituted alkyls include hydroxyalkyl, aminoalkyl, nitroalkyl, haloalkyl, alkylalkyl (branched alkyls, such as methylpentyl), (cycloalkyl)alkyl, phenylalkyl, alkoxy, alkylaminoalkyl, dialkylaminoalkyl, arylalkyl, aryloxyalkyl, arylalkyloxyalkyl, (heterocyclic radical)alkyl, and (heterocyclic radical)oxyalkyl. R₁ thus includes hydroxyalkyl, hydroxyalkenyl, hydroxyalkynyl, hydroxycycloalkyl, hydroxyaryl, aminoalkyl, aminoalkenyl, aminoalkynyl, aminocycloalkyl, aminoaryl, alkylalkenyl, (alkylaryl)alkyl, (haloaryl)alkyl, (hydroxyaryl)alkynyl, and so forth. Similarly, R_A includes hydroxyalkyl and aminoaryl, and R_B includes hydroxyalkyl, aminoalkyl, and hydroxyalkyl(heterocyclic radical)alkyl.

Heterocyclic radicals, which include but are not limited to heteroaryls, include: furyl, oxazolyl, isoxazolyl, thiophenyl, thiazolyl, pyrrolyl, imidazolyl, 1,3,4-triazolyl, tetrazolyl, pyridinyl, pyrimidinyl, pyridazinyl, indolyl, and their nonaromatic counterparts. Further examples of heterocyclic radicals include piperidyl, quinolyl, isothiazolyl, piperidinyl, morpholinyl, piperazinyl, tetrahydrofuryl, tetrahydropyrrolyl, pyrrolidinyl, octahydroindolyl, octahydrobenzothiofuranyl, and octahydrobenzofuranyl.

B. Compounds

One aspect of the invention features the disclosed compounds shown in formula (I) in the Summary section.

Embodiments of the invention include compounds wherein: (a) R_1 is bromo or chloro; (b) R_2 is fluoro; (c) R_3 is H; (d) each of R_2 and R_3 is H; (e) each of R_2 and R_3 is fluoro; (f) R_1 is bromo; (g) each of R_1 , R_2 and R_3 is fluoro; (h) R_2 is nitro; (i) R_3 is H; (j) R_4 is chloro; (k) R_4 is methyl; (l) R_5 is H; (m) R_5 is CH_3 ; (n) X_1 is O or S; (o) X_1 is NH or NCH_3 ; (p) X_2 is OH, SH, or NH_2 ; (q) X_2 is OH; (r) X_2 is NHR_6 ; (s) R_4 is H; (t) R_4 is chloro or methyl; or combinations thereof.

Preferably, where one of the substituents on a heterocyclic radical is an alkenyl or alkynyl group, the double or triple bond, respectively, is not adjacent the point of attachment when it is a heteroatom. For example, in such a situation, the substituent is preferably prop-2-ynyl, or but-2 or 3-enyl, and less preferably prop-1-ynyl or but-1-enyl.

Examples of compounds include: [5-fluoro-2-(1H-tetrazol-5-yl)-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; [2,3-difluoro-6-(1H-tetrazol-5-yl)-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; (4-iodo-2-methyl-phenyl)-[2,3,4-trifluoro-6-(1H-tetrazol-5-yl)-phenyl]-amine; [4-bromo-2,3-difluoro-6-(1H-tetrazol-5-yl)-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; [5-fluoro-4-nitro-2-(1H-tetrazol-5-yl)-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; [2-(4,4-dimethyl-4,5-dihydro-oxazol-2-yl)-5-fluoro-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; [6-(4,4-dimethyl-4,5-dihydro-oxazol-2-yl)-2,3-difluoro-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; [6-(4,4-dimethyl-4,5-dihydro-oxazol-2-yl)-2,3,4-trifluoro-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; [4-bromo-6-(4,4-dimethyl-4,5-dihydro-oxazol-2-yl)-2,3-difluoro-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; [2-(4,4-dimethyl-4,5-dihydro-oxazol-2-yl)-5-fluoro-4-nitro-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazol-2-ol; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazol-2-ol; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazol-2-ol; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazol-2-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-[1,3,4]thiadiazol-2-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-

phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazol-2-ol; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazol-2-ol; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazol-2-ol; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazol-2-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-[1,3,4]oxadiazol-2-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazol-3-ol; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazol-3-ol; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazol-3-ol; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazol-3-ol; and 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-4H-[1,2,4]triazol-3-ol.

Further examples include: 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazol-2-ylamine; 5-[3,4-Difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazol-2-ylamine; 5-[3,4,5-Trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazol-2-ylamine; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazol-2-ylamine; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-[1,3,4]thiadiazol-2-ylamine; 5-[4-Fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazol-2-ylamine; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazol-2-ylamine; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazol-2-ylamine; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazol-2-ylamine; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-[1,3,4]oxadiazol-2-ylamine; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazol-3-ylamine; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazol-3-ylamine; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazol-3-ylamine; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazol-3-ylamine; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-4H-[1,2,4]triazol-3-ylamine; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazole-2-thiol; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazole-2-thiol; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazole-2-thiol; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]thiadiazole-2-thiol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-

phenyl]-[1,3,4]thiadiazole-2-thiol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazole-2-thiol; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazole-2-thiol; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazole-2-thiol; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-[1,3,4]oxadiazole-2-thiol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-[1,3,4]oxadiazole-2-thiol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazole-3-thiol; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazole-3-thiol; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazole-3-thiol; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-[1,2,4]triazole-3-thiol; and 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-4H-[1,2,4]triazole-3-thiol.

Additional examples are: 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isothiazol-3-ol; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isothiazol-3-ol; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isothiazol-3-ol; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isothiazol-3-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-isothiazol-3-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isoxazol-3-ol; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isoxazol-3-ol; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isoxazol-3-ol; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isoxazol-3-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-isoxazol-3-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1H-pyrazol-3-ol; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1H-pyrazol-3-ol; 5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1H-pyrazol-3-ol; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1H-pyrazol-3-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-1H-pyrazol-3-ol; 4-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isothiazol-3-ol; 4-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isothiazol-3-ol; 4-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isothiazol-3-ol; 4-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isothiazol-3-ol; 4-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-isothiazol-3-ol; 4-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-

phenylamino)-phenyl]-isoxazol-3-ol; 4-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isoxazol-3-ol; 4-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isoxazol-3-ol; 4-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-isoxazol-3-ol; 4-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-isoxazol-3-ol; 4-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1-methyl-1H-pyrazol-3-ol; 4-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1-methyl-1H-pyrazol-3-ol; 1-methyl-4-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1H-pyrazol-3-ol; 4-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1-methyl-1H-pyrazol-3-ol; and 4-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-1-methyl-1H-pyrazol-3-ol.

The invention also features compounds such as: 5-[2-(2-amino-4-iodo-phenylamino)-4-fluoro-phenyl]-1-methyl-1H-[1,2,3]triazol-4-ol; 5-[2-(2-amino-4-iodo-phenylamino)-3,4-difluoro-phenyl]-1-methyl-1H-[1,2,3]triazol-4-ol; 5-[2-(2-amino-4-iodo-phenylamino)-3,4,5-trifluoro-phenyl]-1-methyl-1H-[1,2,3]triazol-4-ol; 5-[2-(2-amino-4-iodo-phenylamino)-5-bromo-3,4-difluoro-phenyl]-1-methyl-1H-[1,2,3]triazol-4-ol; 5-[2-(2-amino-4-iodo-phenylamino)-4-fluoro-5-nitro-phenyl]-1-methyl-1H-[1,2,3]triazol-4-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-3-methyl-3H-[1,2,3]triazol-4-ol; 5-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-3-methyl-3H-[1,2,3]triazol-4-ol; 3-methyl-5-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-3H-[1,2,3]triazol-4-ol; 5-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-3-methyl-3H-[1,2,3]triazol-4-ol; 5-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-3-methyl-3H-[1,2,3]triazol-4-ol; 4-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-2-methyl-2H-pyrazol-3-ol; 4-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-2-methyl-2H-pyrazol-3-ol; 2-methyl-4-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-2H-pyrazol-3-ol; 4-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-2-methyl-2H-pyrazol-3-ol; 4-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-2-methyl-2H-pyrazol-3-ol; 1-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4-methyl-1,4-dihydro-tetrazol-5-one; 1-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4-methyl-1,4-dihydro-tetrazol-5-one; 1-methyl-4-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1,4-dihydro-tetrazol-5-one; 1-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-

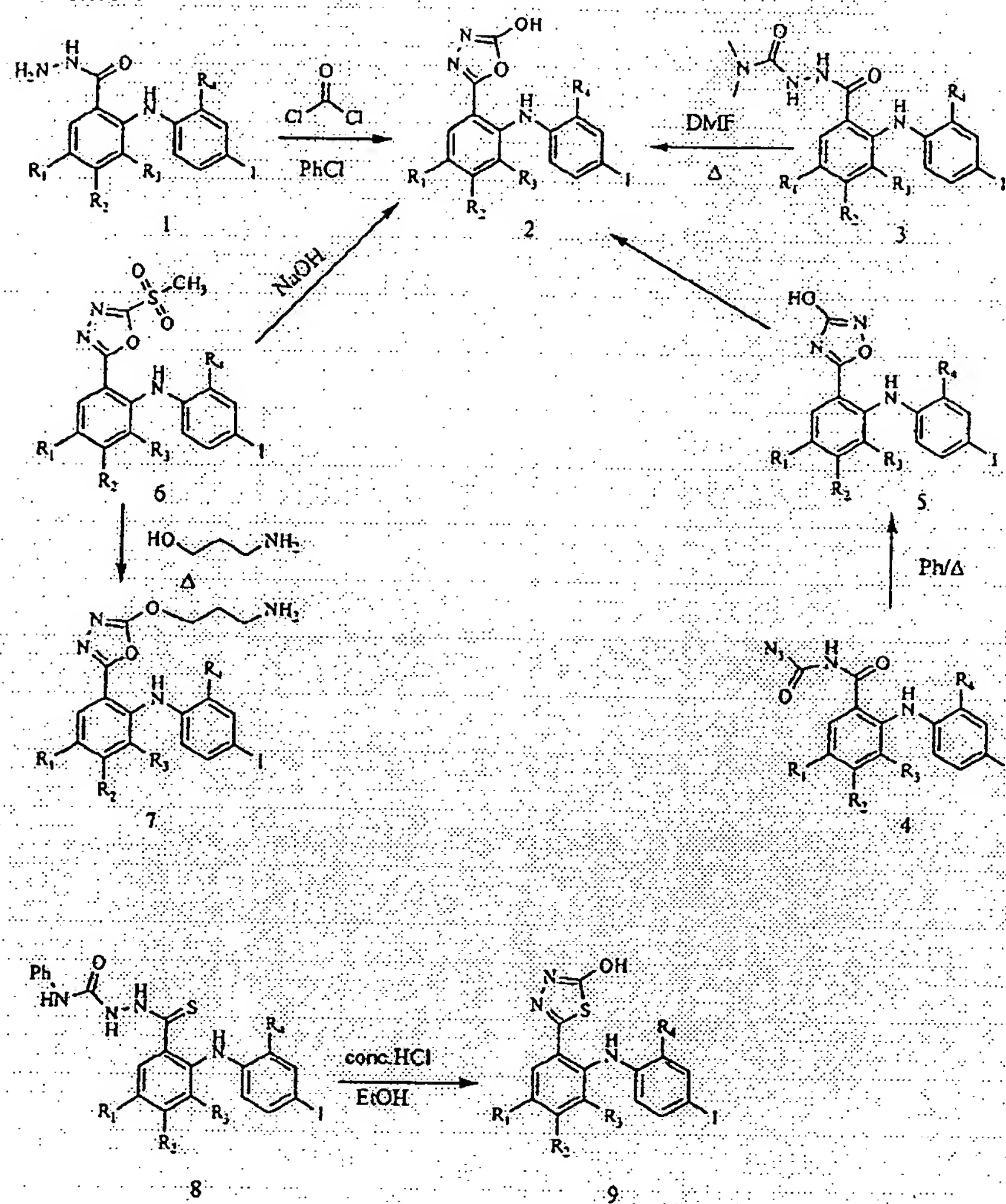
phenyl]-4-methyl-1,4-dihydro-tetrazol-5-one; 1-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-4-methyl-1,4-dihydro-tetrazol-5-one; 1-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1H-[1,2,3]triazol-4-ol; 1-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1H-[1,2,3]triazol-4-ol; 1-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1H-[1,2,3]triazol-4-ol; 1-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-1H-[1,2,3]triazol-4-ol; and 1-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-1H-[1,2,3]triazol-4-ol.

Further examples of the invention include 3-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-2H-isoxazol-5-one; 3-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-2H-isoxazol-5-one; 3-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-2H-isoxazol-5-one; 3-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-2H-isoxazol-5-one; 3-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-2H-isoxazol-5-one; [5-fluoro-2-(2-oxo-2,3-dihydro-2H-[1,2,3,5]oxathiadiazol-4-yl)-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; [2,3-difluoro-6-(2-oxo-2,3-dihydro-2H-[1,2,3,5]oxathiadiazol-4-yl)-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; (4-iodo-2-methyl-phenyl)-[2,3,4-trifluoro-6-(2-oxo-2,3-dihydro-2H-[1,2,3,5]oxathiadiazol-4-yl)-phenyl]-amine; [4-bromo-2,3-difluoro-6-(2-oxo-2,3-dihydro-2H-[1,2,3,5]oxathiadiazol-4-yl)-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; [5-fluoro-4-nitro-2-(2-oxo-2,3-dihydro-2H-[1,2,3,5]oxathiadiazol-4-yl)-phenyl]-(4-iodo-2-methyl-phenyl)-amine; 4-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-isoxazol-5-one; 4-[3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-isoxazol-5-one; 4-[3,4,5-trifluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-isoxazol-5-one; 4-[5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-phenyl]-4H-isoxazol-5-one; and 4-[4-fluoro-2-(4-iodo-2-methyl-phenylamino)-5-nitro-phenyl]-4H-isoxazol-5-one.

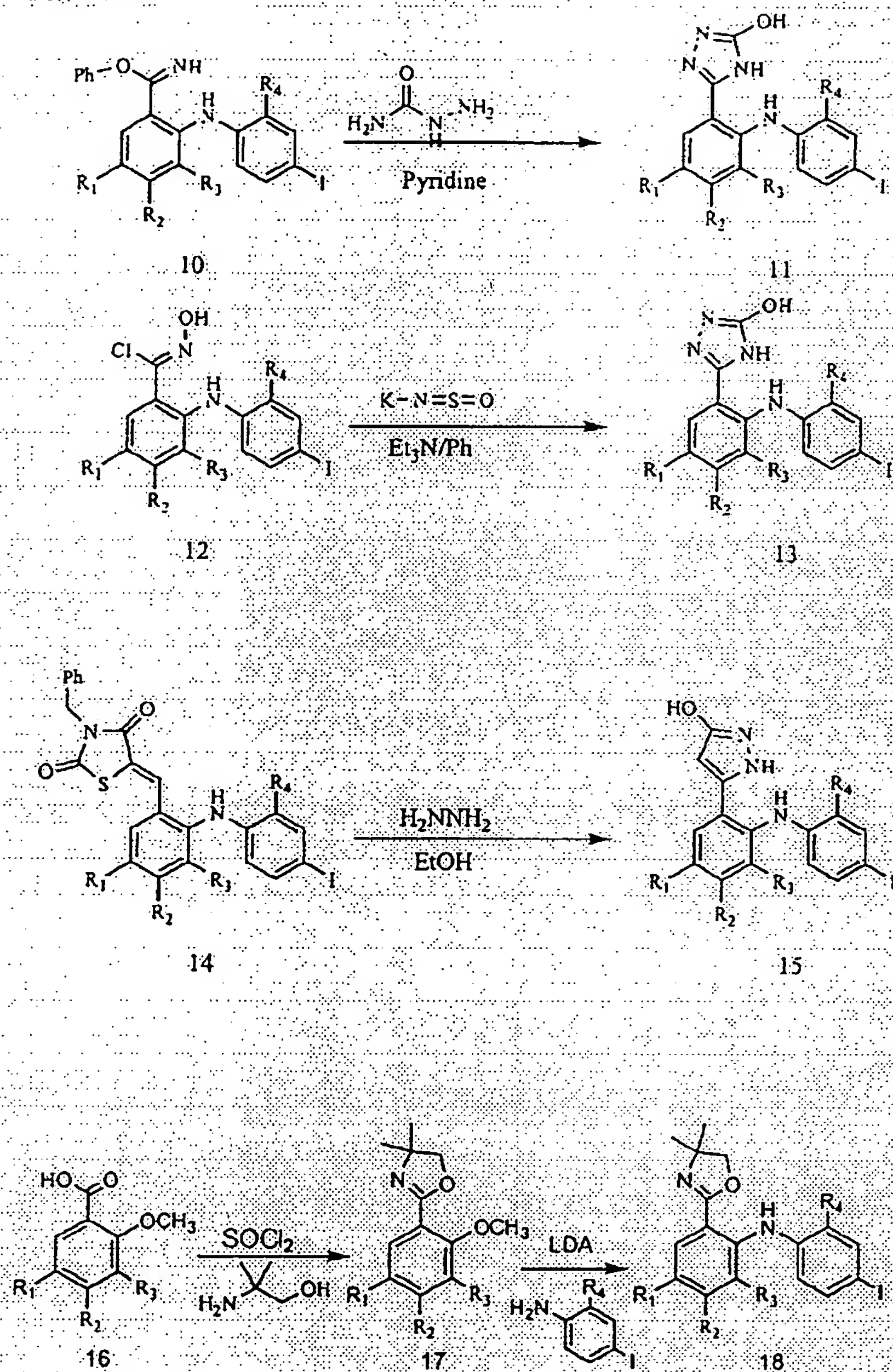
C. Synthesis

The disclosed compounds can be synthesized according to Schemes 1-5 or analogous variants thereof. These synthetic strategies are further exemplified in Example 1 below.

Scheme 1



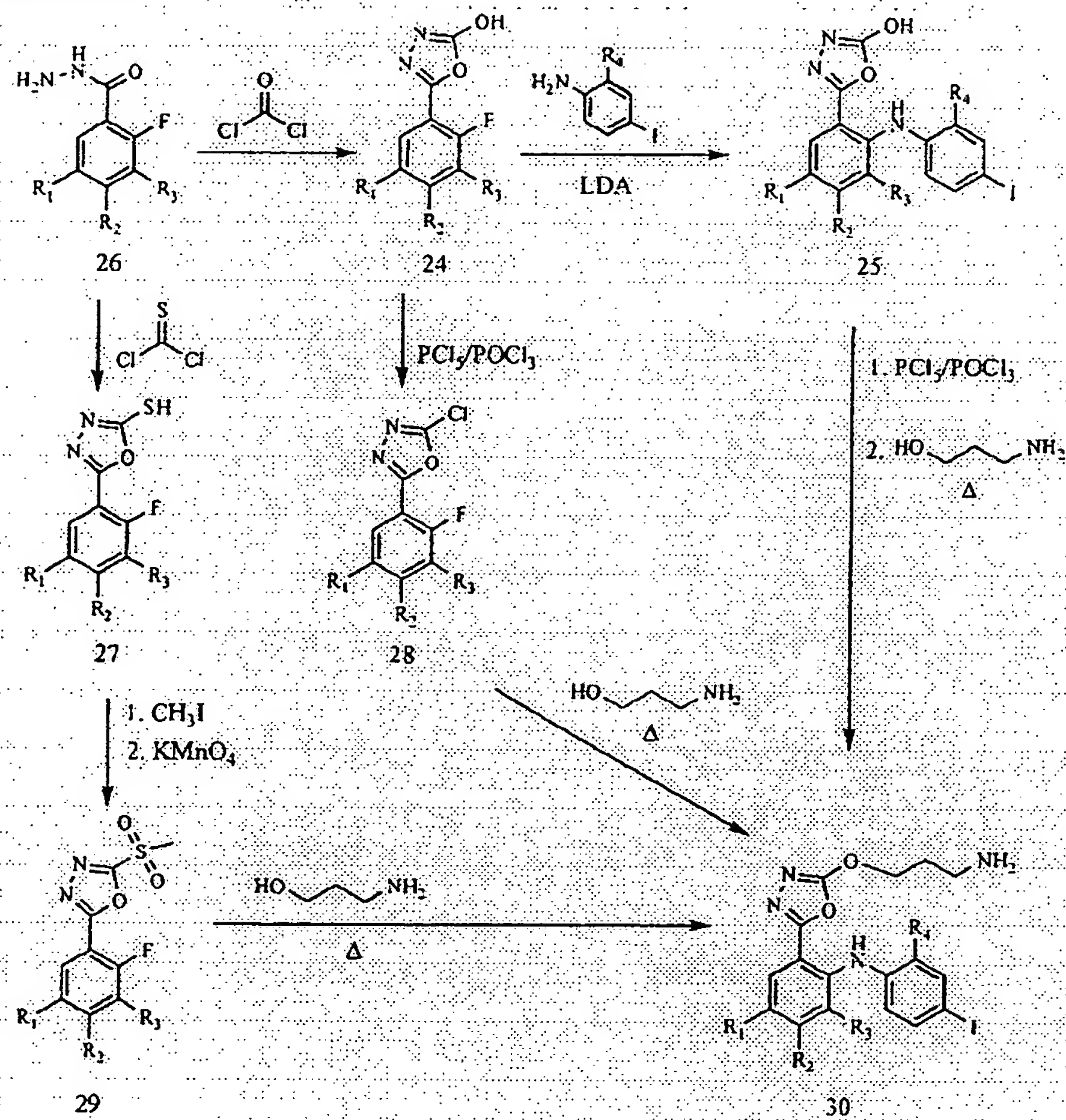
Scheme 2



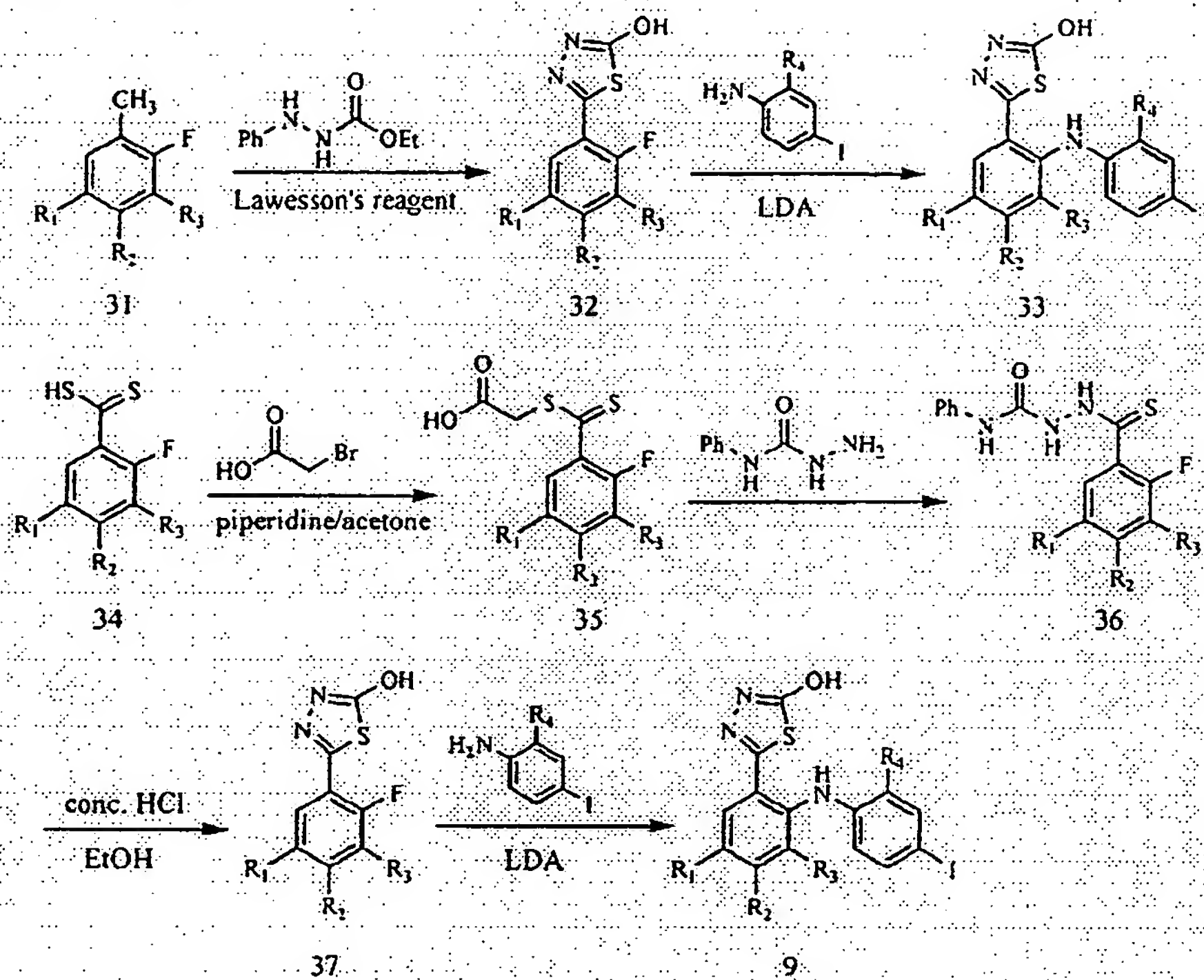
The reaction scheme illustrates the synthesis of 2-aryl-4-fluorophenylhydrazones (24) from 2-fluorophenylhydrazones (19). The scheme includes several alternative pathways and reagents:

- Pathway 1 (Top):** 2-fluorophenylhydrazone (19) reacts with 1. $\text{AcONa}/\text{Br}_2/\text{AcOH}$ and 2. KOH, EtOH to form 2-aryl-4-fluorophenylhydrazone (21). Compound 21 can then be converted to 2-aryl-4-fluorophenylhydrazonol (24) using HCl , or to 2-aryl-4-fluorophenylhydrazonol (25) using HCl and NH_2Ar (where Ar is a 4-iodophenyl group).
- Pathway 2 (Middle):** 2-fluorophenylhydrazone (19) reacts with 1. SOCl_2 , 2. KSCN , 3. EtOH , and 4. NH_2NH_2 to form 2-aryl-4-fluorophenylhydrazonol (24).
- Pathway 3 (Bottom):** 2-fluorophenylhydrazone (19) reacts with NH_2NH_2 and PyBOP to form 2-aryl-4-fluorophenylhydrazonol (24).
- Pathway 4 (Left):** 2-fluorophenylhydrazone (19) reacts with NaOH and H_2O to form 2-aryl-4-fluorophenylhydrazonol (24).
- Pathway 5 (Right):** 2-aryl-4-fluorophenylhydrazonol (24) reacts with HCl and NH_2Ar to form 2-aryl-4-fluorophenylhydrazonol (25).
- Pathway 6 (Bottom):** 2-aryl-4-fluorophenylhydrazonol (24) reacts with 1. $\text{HCl}/\text{H}_2\text{O}$ and 2. $\text{NaOH}/\text{H}_2\text{O}$ to form 2-aryl-4-fluorophenylhydrazonol (24).
- Pathway 7 (Bottom):** 2-aryl-4-fluorophenylhydrazonol (24) reacts with HOCN and NH_3 to form 2-aryl-4-fluorophenylhydrazonol (24).

Scheme 4



Scheme 5



D. Uses

The disclosed compositions are useful as both prophylactic and therapeutic treatments for diseases or conditions as provided in the Summary section, as well as diseases or conditions modulated by the MEK cascade. Examples include stroke, heart failure, osteoarthritis, rheumatoid arthritis, organ transplant rejection, and a variety of tumors such as ovarian, lung, pancreatic, brain, prostatic, and colorectal.

1. Dosages

Those skilled in the art will be able to determine, according to known methods, the appropriate dosage for a patient, taking into account factors such as age, weight, general health, the type of pain requiring treatment, and the presence of other medications. In general, an effective amount will be between 0.1 and 1000 mg/kg per day, preferably between 1 and 300 mg/kg body weight, and daily dosages will be between 10 and 5000 mg for an adult subject of normal weight. Commercially available capsules or other formulations (such as liquids and film-coated tablets) of 100 mg, 200 mg, 300 mg, or 400 mg can be administered according to the disclosed methods.

2. Formulations

Dosage unit forms include tablets, capsules, pills, powders, granules, aqueous and nonaqueous oral solutions and suspensions, and parenteral solutions packaged in containers adapted for subdivision into individual doses. Dosage unit forms can also be adapted for various methods of administration, including controlled release formulations, such as subcutaneous implants. Administration methods include oral, rectal, parenteral (intravenous, intramuscular, subcutaneous), intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, intravesical, local (drops, powders, ointments, gels, or cream), and by inhalation (a buccal or nasal spray).

Parenteral formulations include pharmaceutically acceptable aqueous or nonaqueous solutions, dispersion, suspensions, emulsions, and sterile powders for the preparation thereof. Examples of carriers include water, ethanol, polyols (propylene glycol, polyethylene glycol), vegetable oils, and injectable organic esters such as ethyl oleate. Fluidity can be maintained by the use of a coating

such as lecithin, a surfactant, or maintaining appropriate particle size. Carriers for solid dosage forms include (a) fillers or extenders, (b) binders, (c) humectants, (d) disintegrating agents, (e) solution retarders, (f) absorption accelerators, (g) adsorbants, (h) lubricants, (i) buffering agents, and (j) propellants.

Compositions may also contain adjuvants such as preserving, wetting, emulsifying, and dispensing agents; antimicrobial agents such as parabens, chlorobutanol, phenol, and sorbic acid; isotonic agents such as a sugar or sodium chloride; absorption-prolonging agents such as aluminum monostearate and gelatin; and absorption-enhancing agents.

3. Related compounds

The invention provides the disclosed compounds and closely related, pharmaceutically acceptable forms of the disclosed compounds, such as salts, esters, amides, hydrates or solvated forms thereof; masked or protected forms; and racemic mixtures, or enantiomerically or optically pure forms.

Pharmaceutically acceptable salts, esters, and amides include carboxylate salts (e.g., C₁₋₈ alkyl, cycloalkyl, aryl, heteroaryl, or non-aromatic heterocyclic), amino acid addition salts, esters, and amides which are within a reasonable benefit/risk ratio, pharmacologically effective, and suitable for contact with the tissues of patients without undue toxicity, irritation, or allergic response. Representative salts include hydrobromide, hydrochloride, sulfate, bisulfate, nitrate, acetate, oxalate, valerate, oleate, palmitate, stearate, laurate, borate, benzoate, lactate, phosphate, tosylate, citrate, maleate, fumarate, succinate, tartrate, naphthylate, mesylate, glucoheptonate, lactobionate, and laurylsulfonate. These may include alkali metal and alkali earth cations such as sodium, potassium, calcium, and magnesium, as well as non-toxic ammonium, quaternary ammonium, and amine cations such as tetramethyl ammonium, methylamine, trimethylamine, and ethylamine. See, for example, S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," *J. Pharm. Sci.*, 1977, 66:1-19 which is incorporated herein by reference. Representative pharmaceutically acceptable amides of the invention include those derived from ammonia, primary C₁₋₈ alkyl amines and secondary di (C₁₋₈ alkyl) amines. Secondary amines include 5- or 6-membered

heterocyclic or heteroaromatic ring moieties containing at least one nitrogen atom and optionally between 1 and 2 additional heteroatoms. Preferred amides are derived from ammonia, C₁₋₃ alkyl primary amines, and di (C₁₋₂ alkyl)amines. Representative pharmaceutically acceptable esters of the invention include C₁₋₇ alkyl, C₅₋₇ cycloalkyl, phenyl, and phenyl(C₁₋₆)alkyl esters. Preferred esters include methyl esters.

The invention also includes disclosed compounds having one or more functional groups (e.g., hydroxyl, amino, or carboxyl) masked by a protecting group. Some of these masked or protected compounds are pharmaceutically acceptable; others will be useful as intermediates. Synthetic intermediates and processes disclosed herein, and minor modifications thereof, are also within the scope of the invention.

HYDROXYL PROTECTING GROUPS

Hydroxyl protecting groups include: ethers, esters, and protection for 1,2- and 1,3-diols. The ether protecting groups include: methyl, substituted methyl ethers, substituted ethyl ethers, substituted benzyl ethers, silyl ethers and conversion of silyl ethers to other functional groups.

Substituted Methyl Ethers

Substituted methyl ethers include: methoxymethyl, methylthiomethyl, *t*-butylthiomethyl, (phenyldimethylsilyl) methoxymethyl, benzyloxymethyl, *p*-ethoxybenzyloxymethyl, (4-methoxyphenoxy) methyl, guaiacolmethyl, *t*-butoxymethyl, 4-pentenylloxymethyl, siloxymethyl, 2-methoxyethoxymethyl, 2,2,2-trichloroethoxymethyl, bis(2-chloro-ethoxy)methyl, 2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl, tetrahydropyranyl, 3-bromotetrahydro-pyranyl, tetrahydrothiopyranyl, 1-methoxycyclohexyl, 4-methoxytetrahydropyranyl, 4-methoxytetrahydrothiopyranyl, 4-methoxytetrahydrothiopyranyl S,S-dioxido, 1-[(2-chloro-4-methyl)phenyl]-4-methoxypiperidin-4-yl, 1,4-dioxan-2-yl, tetrahydrofuranyl, tetrahydrothiofuranyl, and 2,3,3a,4,5,6,7,7a-octahydro-7,8,8-trimethyl-4,7-ethanobenzofuran-2-yl.

Substituted Ethyl Ethers

Substituted ethyl ethers include: 1-ethoxyethyl, 1-(2-chloroethoxy)ethyl,

1-methyl-1-methoxyethyl, 1-methyl-1-benzyloxyethyl, 1-methyl-1-benzyloxy-2-fluoroethyl, 2,2,2-trichloroethyl, 2-trimethylsilyl, 2-(phenylselenyl)ethyl, *t*-butyl, allyl, *p*-chlorophenyl, *p*-methoxyphenyl, 2,4-dinitrophenyl, and benzyl.

Substituted Benzyl Ethers

Substituted benzyl ethers include: *p*-methoxybenzyl, 3,4-dimethoxybenzyl, *o*-nitrobenzyl, *p*-nitrobenzyl, *p*-halobenzyl, 2,6-dichlorobenzyl, *p*-cyanobenzyl, *p*-phenylbenzyl, 2- and 4-picolyl, 3-methyl-2-picolyl *N*-oxido, diphenylmethyl, *p*, *p*'-dinitrobenzhydryl, 5-dibenzosuberyl, triphenylmethyl, α -naphthylidiphenylmethyl, *p*-methoxyphenyldiphenylmethyl, di(*p*-methoxyphenyl)phenylmethyl, tri(*p*-methoxyphenyl)methyl, 4-(4'-bromophenacyloxy)phenyldiphenylmethyl, 4,4',4''-tris(4,5-dichlorophthalimidophenyl)methyl, 4,4',4''-tris(levulinoyloxyphenyl)methyl, 4,4',4''-tris(benzoyloxyphenyl)methyl, 3-(imidazol-1-ylmethyl)bis(4',4''-dimethoxyphenyl)-methyl, 1,1-bis(4-methoxyphenyl)-1'-pyrenylmethyl, 9-anthryl, 9-(9-phenyl) xanthenyl, 9-(9-phenyl-10-oxo) anthryl, 1,3-benzodithiolan-2-yl, and benzisothiazolyl *S,S*-dioxido.

Silyl Ethers

Silyl ethers include: trimethylsilyl, triethylsilyl, triisopropylsilyl, dimethylisopropylsilyl, diethylisopropylsilyl, dimethylhexylsilyl, *t*-butyldimethylsilyl, *t*-butyldiphenylsilyl, tribenzylsilyl, tri-*p*-xylylsilyl, triphenylsilyl, diphenylmethylsilyl, and *t*-butylmethoxyphenylsilyl.

ESTERS

Esters protecting groups include: esters, carbonates, assisted cleavage, miscellaneous esters, and sulfonates.

Esters

Examples of protective esters include: formate, benzoylformate, acetate, chloroacetate, dichloroacetate, trichloroacetate, trifluoroacetate, methoxyacetate, triphenylmethoxyacetate, phenoxyacetate, *p*-chlorophenoxyacetate, *p*-*P*-phenylacetate, 3-phenylpropionate, 4-oxopentanoate (levulinate), 4,4-(ethylenedithio) pentanoate, pivaloate, adamantate, crotonate, 4-

methoxycrotonate, benzoate, *p*-phenylbenzoate, and 2,4,6-trimethylbenzoate (mesitoate).

Carbonates

Carbonates include: methyl, 9-fluorenylmethyl, ethyl, 2,2,2-trichloroethyl, 2-(trimethylsilyl) ethyl, 2-(phenylsulfonyl) ethyl, 2-(triphenylphosphonio) ethyl, isobutyl, vinyl, allyl, *p*-nitrophenyl, benzyl, *p*-methoxybenzyl, 3,4-dimethoxybenzyl, *o*-nitrobenzyl, *p*-nitrobenzyl, *S*-benzyl thiocarbonate, 4-ethoxy-1-naphthyl, and methyl dithiocarbonate.

Assisted Cleavage

Examples of assisted cleavage protecting groups include: 2-iodobenzoate, 4-azido-butylate, 4-nitro-4-methylpentanoate, *o*-(dibromomethyl) benzoate, 2-formylbenzene-sulfonate, 2-(methylthiomethoxy) ethyl carbonate, 4-(methylthiomethoxymethyl) benzoate, and 2-(methylthiomethoxymethyl) benzoate.

Miscellaneous Esters

In addition to the above classes, miscellaneous esters include: 2,6-dichloro-4-methylphenoxyacetate, 2,6-dichloro-4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl) phenoxyacetate, 2,4-bis(1,1-dimethylpropyl) phenoxyacetate, chlorodiphenylacetate, isobutyrate, monosuccinoate, (*E*)-2-methyl-2-butenate (tigloate), *o*-(methoxycarbonyl) benzoate, *p*-*P*-benzoate, α -naphthoate, nitrate, alkyl *N,N,N',N'*-tetramethylphosphorodiamidate, *N*-phenylcarbamate, borate, dimethylphosphinothioyl, and 2,4-dinitrophenylsulfenate.

Sulfonates

Protective sulfates includes: sulfate, methanesulfonate(mesylate), benzylsulfonate, and tosylate.

PROTECTION FOR 1,2- AND 1,3-DIOLS

The protection for 1,2 and 1,3-diols group includes: cyclic acetals and ketals, cyclic ortho esters, and silyl derivatives.

Cyclic Acetals and Ketals

Cyclic acetals and ketals include: methylene, ethylidene, 1-*t*-butylethylidene, 1-phenylethylidene, (4-methoxyphenyl) ethylidene, 2,2,2-trichloroethylidene, acetonide (isopropylidene), cyclopentylidene, cyclohexylidene, cycloheptylidene, benzylidene, *p*-methoxybenzylidene, 2,4-dimethoxybenzylidene, 3,4-dimethoxybenzylidene, and 2-nitrobenzylidene.

Cyclic Ortho Esters

Cyclic ortho esters include: methoxymethylene, ethoxymethylene, dimethoxymethylene, 1-methoxyethylidene, 1-ethoxyethylidene, 1,2-dimethoxyethylidene, α -methoxybenzylidene, 1-(*N,N*-dimethylamino)ethylidene derivative, α -(*N,N*-dimethylamino) benzylidene derivative, and 2-oxacyclopentylidene.

PROTECTION FOR THE CARBOXYL GROUP

ESTERS

Ester protecting groups include: esters, substituted methyl esters, 2-substituted ethyl esters, substituted benzyl esters, silyl esters, activated esters, miscellaneous derivatives, and stannyl esters.

Substituted Methyl Esters

Substituted methyl esters include: 9-fluorenylmethyl, methoxymethyl, methylthiomethyl, tetrahydropyranyl, tetrahydrofuranyl, methoxyethoxymethyl, 2-(trimethylsilyl)ethoxy-methyl, benzyloxymethyl, phenacyl, *p*-bromophenacyl, α -methylphenacyl, *p*-methoxyphenacyl, carboxamidomethyl, and *N*-phthalimidomethyl.

2-Substituted Ethyl Esters

2-Substituted ethyl esters include: 2,2,2-trichloroethyl, 2-haloethyl, ω -chloroalkyl, 2-(trimethylsilyl)ethyl, 2-methylthioethyl, 1,3-dithianyl-2-methyl, 2-(*p*-nitrophenylsulfenyl)-ethyl, 2-(*p*-toluenesulfonyl)ethyl, 2-(2'-pyridyl)ethyl, 2-(diphenylphosphino)ethyl, 1-methyl-1-phenylethyl, *t*-butyl, cyclopentyl, cyclohexyl,

allyl, 3-buten-1-yl, 4-(trimethylsilyl)-2-buten-1-yl, cinnamyl, α -methylcinnamyl, phenyl, *p*-(methylmercapto)-phenyl, and benzyl.

Substituted Benzyl Esters

Substituted benzyl esters include: triphenylmethyl, diphenylmethyl, bis(*o*-nitrophenyl)methyl, 9-anthrylmethyl, 2-(9,10-dioxo)anthrylmethyl, 5-dibenzo-suberyl, 1-pyrenylmethyl, 2-(trifluoromethyl)-6-chromylmethyl, 2,4,6-trimethylbenzyl, *p*-bromobenzyl, *o*-nitrobenzyl, *p*-nitrobenzyl, *p*-methoxybenzyl, 2,6-dimethoxybenzyl, 4-(methylsulfinyl)benzyl, 4-sulfobenzyl, piperonyl, and 4-*P*-benzyl.

Silyl Esters

Silyl esters include: trimethylsilyl, triethylsilyl, *t*-butyldimethylsilyl, *i*-propyldimethylsilyl, phenyldimethylsilyl, and di-*t*-butylmethylsilyl.

Miscellaneous Derivatives

Miscellaneous derivatives includes: oxazoles, 2-alkyl-1,3-oxazolines, 4-alkyl-5-oxo-1,3-oxazolidines, 5-alkyl-4-oxo-1,3-dioxolanes, ortho esters, phenyl group, and pentaaminocobalt(III) complex.

Stannyl Esters

Examples of stannyl esters include: triethylstannyl and tri-*n*-butylstannyl.

AMIDES AND HYDRAZIDES

Amides include: *N,N*-dimethyl, pyrrolidinyl, piperidinyl, 5,6-dihydrophenanthridinyl, *o*-nitroanilides, *N*-7-nitroindolyl, *N*-8-nitro-1,2,3,4-tetrahydroquinolyl, and *p*-*P*-benzenesulfonamides. Hydrazides include: *N*-phenyl, *N,N'*-diisopropyl and other dialkyl hydrazides.

PROTECTION FOR THE AMINO GROUP

CARBAMATES

Carbamates include: carbamates, substituted ethyl, assisted cleavage, photolytic cleavage, urea-type derivatives, and miscellaneous carbamates.

Carbamates

Carbamates include: methyl and ethyl, 9-fluorenylmethyl, 9-(2-sulfo)fluorenylmethyl, 9-(2,7-dibromo)fluorenylmethyl, 2,7-di-*t*-butyl-[9-(10,10-dioxo-10,10,10,10-tetrahydro- thioxanthyl)]methyl, and 4-methoxyphenacyl.

Substituted Ethyl

Substituted ethyl protective groups include: 2,2,2-trichloroethyl, 2-trimethylsilylethyl, 2-phenylethyl, 1-(1-adamantyl)-1-methylethyl, 1,1-dimethyl-2-haloethyl, 1,1-dimethyl-2,2-dibromoethyl, 1,1-dimethyl-2,2,2-trichloroethyl, 1-methyl-1-(4-biphenyl)ethyl, 1-(3,5-di-*t*-butylphenyl)-1-methylethyl, 2-(2'-and 4'-pyridyl)ethyl, 2-(*N,N*-cyclohexylcarboxamido)- ethyl, *t*-butyl, 1-adamantyl, vinyl, allyl, 1-isopropylallyl, connamyl, 4-nitrocinnamyl, quinolyl, *N*-hydroxypiperidinyll, alkylidithio, benzyl, *p*-methoxybenzyl, *p*-nitrobenzyl, *p*-bromobenzyl, *p*-chlorobenzyl, 2,4-dichlorobenzyl, 4-methylsulfinylbenzyl, 9-anthrylmethyl, and diphenylmethyl.

Assisted Cleavage

Protection via assisted cleavage includes: 2-methylthioethyl, 2-methylsulfonylethyl, 2-(*p*-toluenesulfonyl)ethyl, [2-(1,3-dithianyl)]methyl, 4-methylthiophenyl, 2,4-dimethyl-thiophenyl, 2-phosphonioethyl, 2-triphenylphosphonioisopropyl, 1,1-dimethyl-2-cyanoethyl, *m*-chloro-*p*-acyloxybenzyl, *p*-(dihydroxyboryl)benzyl, 5-benzisoxazolyl-methyl, and 2-(trifluoromethyl)-6-chromonylmethyl.

Photolytic Cleavage

Photolytic cleavage methods use groups such as: *m*-nitrophenyl, 3,5-dimethoxybenzyl, *o*-nitrobenzyl, 3,4-dimethoxy-6-nitrobenzyl, and phenyl(*o*-nitrophenyl)methyl.

Urea-Type Derivatives

Examples of of urea-type derivatives include: phenothiazinyl-(10)-carbonyl derivative, *N'*-*p*-toluenesulfonylaminocarbonyl, and *N'*-phenylaminothiocarbonyl.

Miscellaneous Carbamates

In addition to the above, miscellaneous carbamates include: *t*-amyl, *S*-benzyl thiocarbamate, *p*-cyanobenzyl, cyclobutyl, cyclohexyl, cyclopentyl, cyclopropylmethyl, *p*-decyloxy-benzyl, diisopropylmethyl, 2,2-dimethoxycarbonylvinyl, *o*-(*N,N*-dimethyl-carboxamido)-benzyl, 1,1-dimethyl-3-(*N,N*-dimethylcarboxamido)propyl, 1,1-dimethyl-propynyl, di(2-pyridyl)methyl, 2-furanylmethyl, 2-iodoethyl, isobornyl, isobutyl, isonicotinyl, *p*-(*p*'-methoxyphenyl-azo)benzyl, 1-methylcyclobutyl, 1-methylcyclohexyl, 1-methyl-1-cyclopropylmethyl, 1-methyl-(3,5-dimethoxyphenyl)ethyl, 1-methyl-1-(*p*-henylazophenyl)ethyl, 1-methyl-1-phenylethyl, 1-methyl-1-(4-pyridyl)ethyl, phenyl, *p*-(phenylazo)benzyl, 2,4,6-tri-*t*-butylphenyl, 4-(trimethylammonium) benzyl, and 2,4,6-trimethylbenzyl.

AMIDES

Amides

Amides includes: *N*-formyl, *N*-acetyl, *N*-chloroacetyl, *N*-trichloroacetyl, *N*-trifluoroacetyl, *N*-phenylacetyl, *N*-3-phenylpropionyl, *N*-picolinoyl, *N*-3-pyridyl-carboxamide, *N*-benzoylphenylalanyl derivative, *N*-benzoyl, and *N*-*p*-phenylbenzoyl.

Assisted Cleavage

Assisted cleavage groups include: *N*-*o*-nitrophenylacetyl, *N*-*o*-nitrophenoxyacetyl, *N*-acetoacetyl, (*N*-dithiobenzoyloxycarbonylamino)acetyl, *N*-3-(*p*-hydroxyphenyl) propionyl, *N*-3-(*o*-nitrophenyl)propionyl, *N*-2-methyl-2-(*o*-nitrophenoxy)propionyl, *N*-2-methyl-2-(*o*-phenylazophenoxy)propionyl, *N*-4-chlorobutyryl, *N*-3-methyl-3-nitrobutyryl, *N*-*o*-nitrocinnamoyl, *N*-acetylmethionine derivative, *N*-*o*-nitrobenzoyl, *N*-*o*-(benzoyloxymethyl)benzoyl, and 4,5-diphenyl-3-oxazolin-2-one.

Cyclic Imide Derivatives

Cyclic imide derivatives include: *N*-phthalimide, *N*-dithiasuccinoyl, *N*-2,3-diphenyl-maleoyl, *N*-2,5-dimethylpyrrolyl, *N*-1,1,4,4-tetramethyldisilylazacyclopentane adduct, 5-substituted

1,3-dimethyl-1,3,5-triazacyclohexan-2-one, 5-substituted 1,3-dibenzyl-1,3,5-triazacyclohexan-2-one, and 1-substituted 3,5-dinitro-4-pyridonyl.

SPECIAL -NH PROTECTIVE GROUPS

Protective groups for -NH include: *N*-alkyl and *N*-aryl amines, imine derivatives, enamine derivatives, and *N*-hetero atom derivatives (such as *N*-metal, *N*-N, *N*-P, *N*-Si, and *N*-S), *N*-sulfenyl, and *N*-sulfonyl.

N-Alkyl and *N*-Aryl Amines

N-alkyl and *N*-aryl amines include: *N*-methyl, *N*-allyl, *N*-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl], *N*-3-acetoxypentyl, *N*-(1-isopropyl-4-nitro-2-oxo-3-pyrrolin-3-yl), quaternary ammonium salts, *N*-benzyl, *N*-di(4-methoxyphenyl)methyl, *N*-5-dibenzosuberonyl, *N*-triphenylmethyl, *N*-(4-methoxyphenyl)diphenylmethyl, *N*-9-phenylfluorenyl, *N*-2,7-dichloro-9-fluorenylmethylene, *N*-ferrocenylmethyl, and *N*-2-picolylamine *N*'-oxide.

Imine Derivatives

Imine derivatives include: *N*-1,1-dimethylthiomethylene, *N*-benzylidene, *N*-*p*-methoxybenzylidene, *N*-diphenylmethylene, *N*-[(2-pyridyl)mesityl]methylene, *N*-(*N*',*N*'-dimethylaminomethylene), *N*,*N*'-isopropylidene, *N*-*p*-nitrobenzylidene, *N*-salicylidene, *N*-5-chlorosalicylidene, *N*-(5-chloro-2-hydroxyphenyl)phenylmethylene, and *N*-cyclohexylidene.

Enamine Derivative

An example of an enamine derivative is *N*-(5,5-dimethyl-3-oxo-1-cyclohexenyl).

N-Hetero Atom Derivatives

N-metal derivatives include: *N*-borane derivatives, *N*-diphenylborinic acid derivative, *N*-[phenyl(pentacarbonylchromium- or -tungsten)]carbenyl, and *N*-copper or *N*-zinc chelate. Examples of *N*-N derivatives include: *N*-nitro, *N*-nitroso, and *N*-oxide. Examples of *N*-P derivatives include:

N-diphenylphosphinyl, *N*-dimethylthiophosphinyl, *N*-diphenylthiophosphinyl, *N*-dialkyl phosphoryl, *N*-dibenzyl phosphoryl, and *N*-diphenyl phosphoryl.

Examples of *N*-sulfenyl derivatives include: *N*-benzenesulfenyl,

N-*o*-nitrobenzenesulfenyl, *N*-2,4-dinitrobenzenesulfenyl,

N-pentachlorobenzenesulfonyl, *N*-2-nitro-4-methoxy-benzenesulfonyl, *N*-triphenylmethylsulfonyl, and *N*-3-nitropyridinesulfonyl. *N*-sulfonyl derivatives include: *N*-*p*-toluenesulfonyl, *N*-benzenesulfonyl, *N*-2,3,6-trimethyl-4-methoxybenzenesulfonyl, *N*-2,4,6-trimethoxybenzenesulfonyl, *N*-2,6-dimethyl-4-methoxy-benzenesulfonyl, *N*-pentamethylbenzenesulfonyl, *N*-2,3,5,6-tetramethyl-4-methoxybenzene-sulfonyl, *N*-4-methoxybenzenesulfonyl, *N*-2,4,6-trimethylbenzenesulfonyl, *N*-2,6-dimethoxy-4-methylbenzenesulfonyl, *N*-2,2,5,7,8-pentamethylchroman-6-sulfonyl, *N*-methanesulfonyl, *N*- β -trimethylsilylethanesulfonyl, *N*-9-anthracenesulfonyl, *N*-4-(4',8'-dimethoxynaphthylmethyl)-benzenesulfonyl, *N*-benzylsulfonyl, *N*-trifluoromethylsulfonyl, and *N*-phenacylsulfonyl.

Disclosed compounds which are masked or protected may be prodrugs, compounds metabolized or otherwise transformed *in vivo* to yield a disclosed compound, e.g., transiently during metabolism. This transformation may be a hydrolysis or oxidation which results from contact with a bodily fluid such as blood, or the action of acids, or liver, gastrointestinal, or other enzymes.

Features of the invention are further described in the examples below.

E. EXAMPLES

EXAMPLE 1

[4-Chloro-2-(4,4-Dimethyl-4,5-dihydro-oxazol-2-yl)-phenyl]-(4-iodo-2-methylphenyl)-amine (18). (Scheme 2; $R_1=Cl$, $R_2=R_3=H$, $R_4=CH_3$)

a). A mixture of 5-chloro-2-methoxybenzoic acid 16 (14.8 g, 0.0793 mole) and $SOCl_2$ (28.31 g, 14.97 ml, 0.1584 mole) was refluxed for 2 hours and excess $SOCl_2$ removed leaving a white residue. The solid was dissolved in CH_2Cl_2 and added to a solution of 2-amino-2-methyl-1-propanol (13.98 g, 14.97 ml, 0.1584 mole) in CH_2Cl_2 cooled with ice-bath. The ice-bath was removed, and after stirring at room temperature for 3 hours a white solid precipitated. The precipitate

was separated by filtration and discarded. The filtrate was concentrated leaving a thick colorless oil. SOCl_2 (17.4 ml) was added to the oil dropwise. An exothermic reaction took place resulting in to a freely flowing solution. After stirring for 30 minutes, the reaction mixture was poured in to Et_2O (200 ml). An oil separated out. The Et_2O layer was removed by decanting and discarded. The oily residue was dissolved in a minimum amount of water, basified with aqueous 20% NaOH , and extracted with Et_2O . The Et_2O layer was dried (K_2CO_3) and concentrated to give 17 as tan oil. Yield 14.63 g (77%).

b). LDA (5 ml of 2.0 M solution in THF) was added to a solution of 4-iodo-2-methylaniline (2.33 g, 0.010 mole) in THF (15 ml) at -78°C . The mixture was stirred at -78°C for 30 minutes. To this, a solution of 17 (1.199 g, 0.005 mole) in THF (15 ml) was added. The mixture stirred for 16 hours as it warmed up to room temperature. The reaction mixture was quenched with aqueous NH_4Cl and extracted with Et_2O . The Et_2O layer was dried (MgSO_4) and concentrated to give crude 18 as brown oil. The oil was purified on silica column chromatography. Eluting with CH_2Cl_2 gave pure 1.7 g (77%) of 18 as brown oil. Four hundred and nine milligrams of the oil were dissolved in Et_2O and treated with $\text{Et}_2\text{O}\cdot\text{HCl}$ giving the HCl salt as a light yellow solid precipitate. Yield 356.4 mg (81%); mp $324\text{--}330^\circ\text{C}$; Anal. Calcd/found for $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{OCl}\cdot\text{HCl}\cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$: C, 44.47/44.32; H, 4.15/3.94; N, 5.76/5.66.

EXAMPLE 2

Cascade assay for inhibitors of the MAP kinase pathway

Incorporation of ^{32}P into myelin basic protein (MBP) is assayed in the presence of a glutathione S-transferase fusion protein containing p44MAP kinase (GST-MAPK) and a glutathione S-transferase fusion protein containing p45MEK (GST-MEK). The assay solution contains 20 mM HEPES, pH 7.4, 10 mM MgCl_2 , 1 mM MnCl_2 , 1 mM EGTA, $50\text{ }\mu\text{M}$ [$\gamma\text{-}^{32}\text{P}$]ATP, $10\text{ }\mu\text{g}$ GST-MEK, $0.5\text{ }\mu\text{g}$ GST-MAPK and $40\text{ }\mu\text{g}$ MBP in a final volume of $100\text{ }\mu\text{L}$. Reactions are stopped after 20 minutes by addition of trichloroacetic acid and filtered through a GF/C

filter mat. ^{32}P retained on the filter mat is determined using a 120S Betaplate.

Compounds are assessed at $10\text{ }\mu\text{M}$ for ability to inhibit incorporation of ^{32}P .

To ascertain whether compounds are inhibiting GST-MEK or GST MAPK, two additional protocols are employed. In the first protocol, compounds are added to tubes containing GST-MEK, followed by addition of GST-MAPK, MBP and $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$. In the second protocol, compounds are added to tubes containing both GST-MEK and GST-MAPK, followed by MBP and $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$.

Compounds that show activity in both protocols are scored as MAPK inhibitors, while compounds showing activity in only the first protocol are scored as MEK inhibitors.

EXAMPLE 3

In vitro MAP kinase assay

Inhibitory activity can be confirmed in direct assays. For MAP kinase, $1\text{ }\mu\text{g}$ GST-MAPK is incubated with $40\text{ }\mu\text{g}$ MBP for 15 minutes at 30°C in a final volume of $50\text{ }\mu\text{L}$ containing 50 mM Tris (pH 7.5), $10\text{ }\mu\text{M}$ MgCl_2 , $2\text{ }\mu\text{M}$ EGTA, and $10\text{ }\mu\text{M}$ $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$. The reaction is stopped by addition of Laemmli SDS sample buffer and phosphorylated MBP resolved by electrophoresis on a 10% polyacrylamide gel. Radioactivity incorporated into MBP is determined by both autoradiography, and scintillation counting of excised bands.

EXAMPLE 4

In vitro MEK assay

For evaluation of direct MEK activity, $10\text{ }\mu\text{g}$ GST-MEK₁ is incubated with $5\text{ }\mu\text{g}$ of a glutathione S-transferase fusion protein containing p44MAP kinase with a lysine to alanine mutation at position 71 (GST-MAPK-KA). This mutation eliminates kinase activity of MAPK, so only kinase activity attributed to the added MEK remains. Incubations are 15 minutes at 30°C in a final volume of $50\text{ }\mu\text{L}$ containing 50 mM Tris (pH 7.5), $10\text{ }\mu\text{M}$ MgCl_2 , $2\text{ }\mu\text{M}$ EGTA, and $10\text{ }\mu\text{M}$ $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$. The reaction is stopped by addition of Laemmli SDS sample buffer. Phosphorylated GST-MAPK-KA is resolved by electrophoresis on a 10%

polyacrylamide gel. Radioactivity incorporated into GST-MAPK-KA is determined by autoradiography, and subsequent scintillation counting of excised bands. Additionally, an artificially activated MEK containing serine to glutamate mutations at positions 218 and 222 (GST-MEK-2E) is used. When these two sites are phosphorylated, MEK activity is increased. Phosphorylation of these sites can be mimicked by mutation of the serine residues to glutamate. For this assay, 5 μ g GST-MEK-2E is incubated with 5 μ g GST-MAPK-KA for 15 minutes at 30°C in the same reaction buffer as described above. Reactions are terminated and analyzed as above.

EXAMPLE 5

Whole cell MAP kinase assay

To determine if compounds block activation of MAP kinase in whole cells, the following protocol is used. Cells are plated in multi-well plates and grown to confluence. Cells are serum-deprived overnight. Cells are exposed to the desired concentrations of compound or vehicle (DMSO) for 30 minutes, followed by addition of a growth factor, for example, PDGF (100 ng/mL). After a 5-minute treatment with the growth factor, cells are washed with PBS, and lysed in a buffer consisting of 70 mM NaCl, 10 mM HEPES (pH 7.4), 50 mM glycerol phosphate, and 1% Triton X-100. Lysates are clarified by centrifugation at 13,000 x g for 10 minutes. Five micrograms of the resulting supernatants are incubated with 10 μ g microtubule associated protein-2 (Map2) for 15 minutes at 30°C in a final volume of 25 μ L containing 50 mM Tris (pH 7.4), 10 mM MgCl₂, 2 mM EGTA and 30 μ M [γ -³²P]ATP. Reactions are terminated by addition of Laemmli sample buffer. Phosphorylated Map2 is resolved on 7.5% acrylamide gels and incorporated radioactivity is determined by scintillation counting of excised bands.

EXAMPLE 6

³H-Thymidine incorporation

Cells are plated in multi-well plates and grown to near confluence. The media is then removed and replaced with growth media containing 1% bovine

serum albumin. After 24-hour serum starvation, test compounds and specific growth factors are added and incubations continued for an additional 24 hours. During the final 2 hours, ^3H -thymidine is added to the medium. To terminate the incubations, the medium is removed and cell layers washed twice with ice-cold phosphate-buffered saline. After the final wash, ice-cold 5% trichloroacetic acid is added and the cells incubated for 15 minutes at room temperature. The trichloroacetic acid solution is then removed and the cell layer washed three times with distilled water. After the final wash, the cell layer is solubilized by addition of 2% sodium dodecylsulfate. Radioactivity in this solution is determined by scintillation counting.

This demonstrates that an inhibitor is selective between the mitogenic and metabolic effects of insulin. In general, a selective inhibitor will show less toxicity than a nonselective inhibitor.

EXAMPLE 7

Monolayer growth

Cells are plated into multi-well plates at 10 to 20,000 cells/mL. Forty-eight hours after seeding, test compounds are added to the cell growth medium and incubation is continued for 2 additional days. Cells are then removed from the wells by incubation with trypsin and enumerated with a Coulter counter.

EXAMPLE 8

Growth in soft-agar

Cells are seeded into 35-mm dishes at 5 to 10,000 cells/dish using growth medium containing 0.3% agar. After chilling to solidify the agar, cells are transferred to a 37°C incubator. After 7 to 10 days' growth, visible colonies are manually enumerated with the aid of a dissecting microscope.

EXAMPLE 9

Collagen-Induced Arthritis in Mice

Type II collagen-induced arthritis (CIA) in mice is an experimental model of arthritis that has a number of pathologic, immunologic, and genetic features in

common with rheumatoid arthritis. The disease is induced by immunization of DBA/1 mice with 100 µg type II collagen, which is a major component of joint cartilage, delivered intradermally in Freund's complete adjuvant. The disease susceptibility is regulated by the class II MHC gene locus, which is analogous to the association of rheumatoid arthritis with HLA-DR4.

A progressive and inflammatory arthritis develops in the majority of mice immunized, characterized by paw width increases of up to 100%. A test compound is administered to mice in a range of amounts, such as 20, 60, 100, and 200 mg/kg body weight/day. The duration of the test can be several weeks to a few months, such as 40, 60, or 80 days. A clinical scoring index is used to assess disease progression from erythema and edema (stage 1), joint distortion (stage 2), to joint ankylosis (stage 3). The disease is variable in that it can affect one or all paws in an animal, resulting in a total possible score of 12 for each mouse. Histopathology of an arthritic joint reveals synovitis, pannus formation, and cartilage and bone erosions. All mouse strains that are susceptible to CIA are high antibody responders to type II collagen, and there is a marked cellular response to CII.

EXAMPLE 10

SCW-induced monoarticular arthritis

Arthritis is induced as described by Schwab, *et al.*, *Infection and Immunity*, 59:4436-4442 (1991) with minor modifications. Rats receive 6 µg sonicated SCW [in 10 µl Dulbecco's PBS (DPBS)] by an intraarticular injection into the right tibiotalar joint on day 0. On day 21, the DTH is initiated with 100 µg of SCW (250 µl) administered i.v. For oral compound studies, compounds are suspended in vehicle (0.5% hydroxypropyl-methylcellulose/0.2% Tween 80), sonicated, and administered twice daily (10 ml/kg volume) beginning 1 hr prior to reactivation with SCW. Compounds are administered in amounts between 10 and 500 mg/kg body weight/day, such as 20, 30, 60, 100, 200, and 300 mg/kg/day. Edema measurements are obtained by determining the baseline volumes of the sensitized hindpaw before reactivation on day 21, and comparing them with

volumes at subsequent time points such as day 22, 23, 24, and 25. Paw volume is determined by mercury plethysmography.

EXAMPLE 11

Mouse ear-heart transplant model

Fey, T.A. *et al.* describe methods for transplanting split-heart neonatal cardiac grafts into the ear pinna of mice and rats (*J. Pharm. and Toxic. Meth.* 39:9-17 (1998)). Compounds are dissolved in solutions containing combinations of absolute ethanol, 0.2% hydroxypropyl methylcellulose in water, propylene glycol, cremophor, and dextrose, or other solvent or suspending vehicle. Mice are dosed orally or intraperitoneally once, twice or three times daily from the day of transplant (day 0) through day 13 or until grafts have been rejected. Rats are dosed once, twice, or three times daily from day 0 through day 13. Each animal is anesthetized and an incision is made at the base of the recipient ear, cutting only the dorsal epidermis and dermis. The incision is spread open and down to the cartilage parallel to the head, and sufficiently wide to accommodate the appropriate tunneling for a rat or insertion tool for a mouse. A neonatal mouse or rat pup less than 60 hours old is anesthetized and cervically dislocated. The heart is removed from the chest, rinsed with saline, bisected longitudinally with a scalpel, and rinsed with sterile saline. The donor heart fragment is placed into the preformed tunnel with the insertion tool and air or residual fluid is gently expressed from the tunnel with light pressure. No suturing, adhesive bonding, bandaging, or treatment with antibiotics is required.

Implants are examined at 10-20-fold magnification with a stereoscopic dissecting microscope without anesthesia. Recipients whose grafts are not visibly beating may be anesthetized and evaluated for the presence of electrical activity using Grass E-2 platinum subdermal pin microelectrodes placed either in the pinna or directly into the graft and a tachograph. Implants can be examined 1-4 times a day for 10, 20, 30 or more days. The ability of a test compound to ameliorate symptoms of transplant rejection can be compared with a control compound such as cyclosporine, tacrolimus, or orally-administered leflunomide.

EXAMPLE 12

Western Blot Analysis of phosphorylated ERK1/ERK2 in Human PBMC ProteinExtracts

Lysis Buffer & Protease-Inhibitor Preparation

Add these ingredients and store at 4°C

<u>Stock</u>	<u>Amount</u>	<u>Final Concentration</u>
NaCl	2.454g	70 mM
β -glycerol phosphate	5.4 g	50 mM
1 M HEPES	5 ml	10 mM
Triton X-100	5 ml	1 %
dd H ₂ O	q.s. to 500 ml	

Prepare the following stock solutions and store under recommended conditions prior to addition to lysis buffer. The following solutions should be added to the lysis buffer just prior to the lysis step. The solution should not be prepared more than 30 minutes ahead of time and should be stored at 4 °C until use.

	<u>Stock</u>	<u>Amount</u>	<u>Final Concentration</u>	<u>Storage</u>
1.	Na ₃ VO ₄ dd H ₂ O	3.678 g 200 ml	100 mM	4 °C
2.	PMSF EtOH	17.4 mg 1 mL	100 mM	-20°C

Make up fresh stock every three weeks and store protected from light.

3.	Leupeptin dd H ₂ O	5 mg 5 mL	1 mg/ml	-20°C
----	----------------------------------	--------------	---------	-------

Add three ingredients to 25 ml of lysis buffer solution.

<u>Final Concentration</u>	<u>Stock</u>	<u>Amount</u>
1 mM Na_3VO_4	100 mM	250 μL
1 μM PMSF	100 mM	1:100 in ddH ₂ O, then 25 μl to lysis buffer
1 mM Leupeptin	1 mg/mL	11.9 μL

Collect nonadherent cells in 15 ml conical tubes (on ice) and centrifuge at 800 rpm for 5 minutes at 4°C to pellet cells. Add 250 μl lysis buffer to each well (each well was set up with 10×10^6 cells). Pipet up and down repeatedly to lyse cells on plate. Once nonadherent cells have been pelleted, aspirate the supernatant and resuspend the pellet with the lysis buffer from the corresponding well. Pipet buffer repeatedly before transferring to nonadherent cell pellet to ensure that cells are lysed and completely removed from the tissue culture dish. Pipet volume in tube repeatedly to lyse all cells. Centrifuge samples at 2500 x g for 15 minutes at 4°C. Collect supernatant in a microcentrifuge tube with a cap and store until further use at -80°C.

Gel Electrophoresis

Dilute 100 ml 10X Tris/Glycine/SDS buffer (Novex LC 2675) to 1 L with dd H₂O. 1.0 or 1.5 mm 10% Tris Glycine pre-cast gels from Novex are used. The gel thickness used (1.0 or 1.5 mm) will depend on the volume of sample to be loaded per well. The following table indicates the capacity of the available gels.

<u>Well number</u>	<u>Gel thickness</u>	<u>Maximum well volume</u>
10	1.0 mm	25 μl
15	1.0 mm	15 μl
10	1.5 mm	37 μl
15	1.5 mm	25 μl

Open gel pouch and remove gel cassette. Peel tape off bottom and carefully pull out comb. Rinse wells with 1X Tris/Glycine/SDS running buffer. Orient gels in the Mini-Cell so that the well side of the cassettes face the buffer core. Fill the core with running buffer, checking for leaking. Pre-run the gels for 15 minutes at 100 V. Prepare samples by adding appropriate volumes of protein and Novex Tris-Glycine SDS Sample Buffer (LC2676). It is most ideal to load at least 10 μ l of sample per lane. To calculate the volumes needed determine the amount of protein required to load three lanes with 5 μ g per lane. Once this has been determined, aliquot the appropriate volume of protein sample into an eppendorf tube and add an equal volume of 2X Tris-Glycine SDS Buffer. Divide the total volume by three to determine the volume of sample to load per lane. Heat samples at 95°C for 5 minutes. Load 10 μ l molecular weight marker (Benchmark Prestained Protein Ladder, Gibco BRL 10748-010) in the standard lane. Run gel at 125 V (constant voltage) or less for approximately 90 minutes or until blue dye front reaches the bottom of gel.

Transfer

Dilute 40 ml 25X Tris-Glycine Transfer Buffer (Novex LC3675) to 1 L with ddH₂O. Remove gel(s) from cassette and rinse in 1X transfer buffer for 10 minutes with gentle shaking. Pre-wet nitrocellulose and filter papers (Novex LC2001) in 1X transfer for 10 minutes. Soak blotting pads (Novex EI9052) in 1X transfer buffer until saturated. Remove air pockets and bubbles by squeezing in buffer. Assemble blot module. Fill core with 1X transfer buffer, checking for leaking. Fill the outer chamber with transfer buffer. Transfer for 1 hour and 15 minutes at 250 mA max (constant current).

EXAMPLE 13

Murine ovalbumin-induced eosinophilia

Female C57BL/6 mice are obtained from the Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME). All animals are given food and water ad libitum. Mice are sensitized

with a single i.p. injection of OVA (grade V, Sigma Chemical Company, St. Louis, MO) adsorbed to alum, (10 μ g OVA + 9 mg alum in 200 μ l saline) or vehicle control, (9 mg alum in 200 μ l saline) on day 0. On day 14, the mice are challenged with a 12-minute inhalation of an aerosol consisting of 1.5% OVA (weight/volume) in saline produced by a nebulizer (small particle generator, model SPAG-2; ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, CA). Groups of eight mice are dosed with oral vehicle (0.5% hydroxypropylmethylcellulose / 0.25% TWEEN-80), or a test compound at 10, 30, or 100 mg/kg in oral vehicle, 200 μ l per mouse p.o. Dosing is performed once per day starting on day 7 or day 13, and extending through day 16.

For determination of pulmonary eosinophilia, three days after the first OVA aerosol challenge (day 17), the mice are anesthetized with an i.p. injection of anesthetic (Ketamine/Acepromazine/Xylazine), and the tracheae is exposed and cannulated. The lungs and upper airways are lavaged twice with 0.5 ml of cold PBS. A portion (200 μ l) of the bronchoalveolar lavage (BAL) fluid is enumerated using a Coulter counter Model ZB1 (Coulter Electronics, Hialeah, FL). The remaining BAL fluid is then centrifuged at 300 x g for five minutes, and the cells are resuspended in 1 ml of HBSS (Gibco BRL) containing 0.5% fetal calf serum (HyClone) and 10 mM HEPES (Gibco BRL). The cell suspension is centrifuged in a cytopsin (Shandon Southern Instruments, Sewickley, PA) and stained by Diff Quick (American Scientific Products, McGraw Park, IL) to differentiate BAL leukocytes into neutrophil, eosinophil, monocyte or lymphocyte subsets. The number of eosinophils in the BAL fluid is determined by multiplying the percentage of eosinophils by the total cell count.

F. OTHER EMBODIMENTS

From the above disclosure and examples, and from the claims below, the essential features of the invention are readily apparent. The scope of the invention also encompasses various modifications and adaptations within the knowledge of a person of ordinary skill. Examples include a disclosed compound modified by addition or removal of a protecting group, or an ester, pharmaceutical

salt, hydrate, acid, or amide of a disclosed compound. Publications cited herein are hereby incorporated by reference in their entirety.

1. Abstract

Benzoheteroaryl compounds, methods of making and using them, and compositions containing them.

2. Representative Drawing

None

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☒ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER: _____**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.